รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

ศึกษาปริมาณสาร Capsaicinoids, Capsiate, Capsanthin, Beta-carotene, Fatty acid และ VOC ในพริกที่ปลูกในประเทศไทยเพื่อเป็นข้อมูลทางโภชนาการและการนำไปใช้ประโยชน์

โดย

ดร.อุทัย วิชัย และคณะ

กรกฎาคม 2555

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

ศึกษาปริมาณสาร Capsaicinoids, Capsiate, Capsanthin, Beta-carotene, Fatty acid และ VOC ในพริกที่ปลูกในประเทศไทยเพื่อเป็นข้อมูลทางโภชนาการและการนำไปใช้ประโยชน์

คณะผู้วิจัย สังกัด

1. ดร.อุทัย วิชัย	ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
2. รศ.ดร.เมธา รัตนากรพิทักษ์	ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
3. ดร.บุญจิรา รัตนากรพิทักษ์	ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
4. ดร.สิริกุล วะสี	ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
5. นายกรุง สีตะธนี	ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
6. ผศ.ดร. เกตุจันทร์ จำปาไชยศรี	ภาควิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ชุดโครงการ "สมุนไพรเพื่อคุณภาพชีวิต"

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

สารบัญ

บทที่		หน้า
1	**บทนำ**	1
	1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
	1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
	1.3 แนวทางและขั้นตอนการดำเนินงาน	3
	1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับเมื่อการดำเนินงานเสร็จสิ้นที่เป็นรูปธรรม และตัวชี้วัดความสำเร็จของโครงการ	4
	1.5 กระบวนการผลักดันผลงานดังกล่าวออกสู่การใช้ประโยชน์	4
	1.6 เอกสารอ้างอิง	4
2	**เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	6
	2.1 ลักษณะทั่วไปของพริก	6
	2.2 สารสำคัญในพริก	7
	2.2.1 สารให้ความเผ็ดในพริก	7
	2.2.2 สารสีในพริก	12
	2.2.3 สารกลุ่ม capsinoids	13
	2.2.4 สารกลุ่มกรดไขมัน (fatty acid)	15
	2.2.5 สารกลุ่มสารหอมระเหยอินทรีย์ (volatile organic compounds)	17
	2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับปริมาณสาร capsaicinoids, Capsiate, Capsanthin, Beta-carotene, Fatty acid และ VOCs ในพริกสายพันธุ์ต่างๆ	19
	2.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณของสารในกลุ่ม Capsaicinoids	19
	2.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณของสารในกลุ่ม Capsiate	25
	2.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณของสารในกลุ่ม Carotenoids	26
	2.4 เอกสารอ้างอิง	36

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
3	**การทดลอง วิธีการทดลอง ผลการทดลอง สรุปผลการทดลอง**	41
	3.1 การเลือกสายพันธุ์พริกและการปลูกพริกตัวอย่าง	41
	3.2 วิเคราะห์หาปริมาณสาร capsaicinoids และ capsiate ในพริกกลุ่มตัวอย่างด้วยเทคนิค HPLC	44
	3.2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารในกลุ่ม capsaicinoids ด้วยเทคนิค HPLC	44
	3.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารในกลุ่ม capsiate ด้วยเทคนิค HPLC	56
	3.2.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณสารในกลุ่ม capsiate ด้วยเทคนิค HPLC	58
	3.3 วิเคราะห์หาปริมาณสาร capsanthin และ beta-carotene ในพริกกลุ่มตัวอย่างด้วยเทคนิค HPLC	59
	3.3.1 การสกัดและแยกสาร capsanthin จาก ***Capsicum Fructescens L.***	59
	3.3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ capsanthin และ beta-carotene ในพริก	61
	3.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสาร capsanthin และ beta-carotene ด้วยเทคนิค HPLC	68
	3.4 วิเคราะห์เชิงคุณภาพสารในกลุ่ม fatty acid	81
	3.4.1 การสังเคราะห์)*E*-(7-methyl-5-octenoic acid (C-8)	81
	3.4.2 การสังเคราะห์สารมาตรฐาน (E)-8-methyl-6-nonenoic acid (C-9)	88
	3.4.3 การสังเคราะห์สารมาตรฐาน (E)-9-methyl-7-decenoic acid (C-10)	90
	3.4.4 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพของ Medium Chain Fatty acid	90
	3.5 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพสารในกลุ่ม Volatile organic compounds (VOC) ในพริกตัวอย่างด้วย HS-SPME GC-MS technique	94
4	**สรุปผลการศึกษา**	100
	ภาคผนวก	102
	ภาคผนวก ก	103
	ภาคผนวก ข	152
	ภาคผนวก ค	162
	ภาคผนวก ง	179

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	ภาคผนวก จ	222

สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
1.1	โครงสร้างทางเคมีของแคปไซซินอยด์	1
1.2	โครงสร้างทางเคมีของแคปซินอยด์	2
1.3	โครงสร้างทางเคมีของสารสีในพริก	2
2.1	โครงสร้างทางเคมีของแคปไซซินอยด์	8
2.2	โครงสร้างของผลพริกและเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่สร้างสารที่ให้ความเผ็ดในพริก	9
2.3	Biosynthesis pathway ของ capsaicin	11
2.4	โครงสร้างทางเคมีของสารสีหลักในพริก	12
2.5	กระบวนการ Biosynthesis pathway ของ capsanthin	13
2.6	Biosynthesis pathway ของ capsaicin และ capsiate	15
2.7	ชนิดของกรดไขมันที่พบได้ทั่วไป	16
2.8	Biosynthesis pathway ของ Fatty acid	16
2.9	กระบวนการ biosynthesis ของสารหอมระเหยด้วยเอนไซม์ lipoxygenase ใน bell peppers. LOOH, hydroperoxide; [LOX], lipoxygenase; [HPOL], hydroperoxide lyase; [ADH], alcohol dehydrogenase; [Z3/E2-ISO], (Z)-3/(E)-2 isomerase; [E?], unknown enzyme	18
2.10	โครงสร้างทางเคมีของสาร capsaicinoids	20
2.11	ภาพถ่ายแนวตั้งพื้นผิวด้านนอกของ Korean Hansui hot pepper ที่ถูกตัดแบ่งออกเป็น 3 ส่วน เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสาร capsaicinoids	20
2.12	Reverse phase HPLC. The relative areas of carotenoids (retention time) are shown for: latoxanthin (9.7), capsorubin (11.4), neoxanthin (13.1), capsanthin 5,6-epoxide (13.25), violaxanthin (14.4), capsanthin 3,6-epoxide (15.3), luteoxanthin (16.1), curcurbitaxanthin B (17.3), capsanthin (17.8), cicloviolaxanthin (19.3), antheraxanthin (19.3), mutatoxanthin (20.9), mutatoxanthin (21.9), 9-cis-capsanthin (23.0), lutein (24.0), zeaxanthin (24.3), 9-cis-zeaxanthin (27.2), 15-cis-zeaxanthin (28.4), canthaxanthin (29.6), cryptocapsin (31.5), a-cryptoxanthin (33.9), b-crytopxanthin (34.4), b-apo-80-carotenal (34.9), a-carotene (40.4), b-carotene (40.8) A: Mulato, B: Guajillo, C: Ancho	28

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
2.13	(A) Photographs showing the colours of different varieties of red pepper fruits at different stages of ripening. (B) Measurements of the total carotenoid contents in red Capsicum varieties during ripening. Fruits at each stage of ripening (S1–4) were used for the extraction of carotenoids and total RNA. Fruits at ripening stage S3 of the LR1 pepper, S4 of the R1 pepper, and S2 and S3 of both the LR2 and R2 peppers are not shown here	29
2.14	(A) Photographs showing the colours of different varieties of non-red pepper fruits at different stages of ripening. (B) Measurements of the total carotenoid contents in non-red Capsicum varieties during ripening. Fruits at each stage of ripening (S1–4) were again used for the extraction of carotenoids and total RNA	30
2.15	HPLC elution profile of carotenoids in green chilli, their chemical structures and kmax. Peaks: 1, neoxanthin; 2, violaxanthin; 3, lutein; 4, zeaxanthin; 6, chlorophyll b; 7, chlorophyll a; 9, a-carotene; 10, b-carotene. Refer Section 2 for HPLC conditions	30
2.16	ตัวอย่างพริกสีส้ม 8 ชนิดที่ใช้ในการวิเคราะห์ carotenoid	31
2.17	กราฟเปรียบเทียบปริมาณ total carotenoids ในพริกแต่ละชนิด	32
3.1	โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน capsaicin ความเข้มข้น 200 ppm	45
3.2	กราฟสารละมาตรฐาน capsaicin ที่ความเข้มข้น 25, 50, 100, 150, 200 และ 500 ppm	45
3.3	โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน dihydrocapsaicin ความเข้มข้น 165.6 ppm	46
3.4	กราฟสารละมาตรฐาน dihydrocapsaicin 20.7, 41.4, 82.8, 124.2, 165.6 และ 414 ppm	46
3.5	โครมาโทรแกรมของสารตัวอย่างในการวิเคราะห์หาปริมาณ capsaicinoids ในพริก	47
3.6	การจัดกลุ่มพริกในการศึกษาตาม SHU scale	55
3.7	แนวทางการสังเคราะห์ capsiate	56
3.8	^{1}H NMR spectrum ของ (E)-capsiate	57
3.9	Mass spectrum ของ capsiate	57
3.10	การเกิดการสลายตัวของ capsiate ผ่าน ortho-quinone methide	58

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ หน้า

3.11 HPLC chromatogram ของสาร capsanthin (หลังการแยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค HPLC) ในระบบ Mobile phase Acetonitrile : Isopropanol : Ethyl acetate (70 : 15 : 15) 0.1% TEA flow rate 1.0 มิลลิลิตร/นาที..... 60

3.12 Mass spectrum ของสาร capsanthin หลังทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค HPLC (C-18 semi preparative column)..... 60

3.13 ^{1}H-NMR spectrum ของสาร capsanthin (solvent $CDCl_3$) หลังทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค HPLC. 61

3.14 โครมาโทแกรมสารมาตรฐาน capsanthin ในระบบ Mobile phase 20% MTBE:MeOH..... 63

3.15 โครมาโทแกรมสารมาตรฐาน beta-carotene ในระบบ Mobile phase 20% MTBE:MeOH..... 63

3.16 โครมาโทแกรมสารมาตรฐานผสม capsanthin กับ beta-carotene ในระบบ Mobile phase 20% MTBE:MeOH..... 64

3.17 โครมาโทแกรมสารตัวอย่างที่สกัดด้วยวิธีที่ 1 ในระบบ Mobile phase 20% MTBE:MeOH..... 64

3.18 โครมาโทแกรมสารตัวอย่างที่สกัดด้วยวิธีที่ 2 ในระบบ Mobile phase 20% MTBE:MeOH..... 65

3.19 โครมาโทแกรมสารมาตรฐานผสม capsanthin กับ beta-carotene ในระบบ Mobile phase 20% MTBE:MeOH..... 66

3.20 โครมาโทแกรมสารมาตรฐานผสม capsanthin กับ beta-carotene ในระบบ Mobile phase ACN:IPA:EtOAc (70:15:15)..... 66

3.21 โครมาโทแกรมสารตัวอย่าง ในระบบ Mobile phase 20% MTBE:MeOH..... 67

3.22 โครมาโทแกรมสารตัวอย่าง ในระบบ Mobile phase ACN:IPA:EtOAc (70:15:15)..... 67

3.23 โครมาโทแกรมสารละลายมาตรฐาน capsanthin และ beta-carotene..... 68

3.24 กราฟสารละมาตรฐาน capsanthin ที่ความเข้มข้น 1, 25, 50, 75 และ 100 ppm..... 69

3.25 กราฟสารละมาตรฐาน beta-carotene ที่ความเข้มข้น 1, 5, 10, 30 และ 50 ppm..... 70

3.26 ตัวอย่างโครมาโทรแกรมของสารตัวอย่างในการวิเคราะห์ capsanthin และ beta-carotene..... 72

3.27 การแบ่งกลุ่มของพริกโดยใช้ปริมาณของ capsanthin และ beta carotene เป็นตัวกำหนด..... 80

3.28 Biosynthesis ของ capsanthin และ beta carotene..... 80

3.29 การสังเคราะห์ (*E*)-7-methyl-5-octenoic acid..... 81

3.30 กลไกการสังเคราะห์ 5-bromopentanoic acid..... 82

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ		หน้า
3.31	^{1}H-NMR ของ 5-bromopentanoic acid	83
3.32	การสังเคราะห์ 5-carboxypentyltriphosphoniumbromide salt	83
3.33	กลไกการสังเคราะห์ 5-carboxypentyltriphosphoniumbromide salt	84
3.34	^{1}H-NMR ของ 5-carboxypentyltriphosphoniumbromide salt	84
3.35	การสังเคราะห์ (*Z*)-7-methyl-5-octenoic acid	84
3.36	กลไกการสังเคราะห์ (*Z*)-7-methyl-5-octenoic acid	86
3.37	^{1}H-NMR ของ (*Z*)-7-methyl-5-octenoic acid	86
3.38	การสังเคราะห์ (*E*)-7-methyl-5-octenoic acid	87
3.39	กลไกการสังเคราะห์ (*E*)-7-methyl-5-octenoic acid	87
3.40	^{1}H-NMR ของ (*E*)-7-methyl-5-octenoic acid	88
3.41	แนวทางการสังเคราะห์ (E)-8-methyl-6-nonenoic acid	88
3.42	^{1}H NMR สเปกตรัมของ (6-carboxyhexyl) triphosphonium salt	89
3.43	^{1}H NMR สเปกตรัมของ Z-8-methyl-6-nonenoic acid	90
3.44	^{1}H NMR สเปกตรัมของ E-8-methyl-6-nonenoic acid	90
3.45	GC-MS สเปกตรัมของ Z-8-Methylnonenoic methyl ester	92
3.46	GC-MS สเปกตรัมของตัวอย่างพริกพิโรธแห้ง	93
3.47	GC-MS สเปกตรัมของตัวอย่างพริกพิโรธสด	93
3.48	โครมาโทแกรมของสาร Volatile organic compounds (VOC) ในตัวอย่างพริกขี้หนูผลเล็ก No.114 (a) และ ขี้หนูผลใหญ่ No.191 (b)	95

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
2.1	ส่วนประกอบของแคปไซซินอยด์	8
2.2	ปริมาณสารสีหลักในพริก	12
2.3	โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม capsinoids	14
2.4	conversion rate (%) ของ [^{14}C] vanillin	14
2.5	ปริมาณ vanillylamine และ vanillyl alcohol (mg g^{-1} น้ำหนักแห้ง) ในพริกสายพันธุ์ CH-19 Sweet และ Takanotsume	15
2.6	สารหอมระเหยหลักที่พบในตัวอย่างพริก	17
2.7	Capsicum germplasm analyzed for capsaicinoid content by EIA and HPLC	19
2.8	Capsaicinoids in parts of Seongrok (hottest) and Hansuwi (hot) red Korean peppers determined by HPLC	21
2.9	Capsaicinoids content of red Korean peppers	21
2.10	Individual and total capsaicinoids contents of whole fresh and canned peppers sold in California determined by HPLC	21
2.11	Individual and total capsaicinoids contents of commercial dry peppers and pepper-containing foods sold in California determined by HPLC	22
2.12	Capsaicinoids composition of the ripe fruts of five *Capsicum annuum* cultivars (mg/kg dry matter)	23
2.13	Capsaicin content in the pericarp, placenta, and seeds of seven chili pepper cultivars grown in the state of Yucatan, Mexico	23
2.14	Dihydrocapsaicin content in the pericarp, placenta, and seeds of seven chili pepper cultivars grown in the state of Yucatan, Mexico	24
2.15	Capsaicinoids content (mg/g) of pepper and pepper sauces (n = 3) and recovery % by SPME-GC-MS	24
2.16	Capsicum cultivars used for this study and capsiconinoid, capsinoid, and capsaicinoid content in fruits	25
2.17	ปริมาณของสาร capsiate และ Dihydrocapsiate ในพริก	26

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
2.18	Carotenoid composition in three varieties of C. annuum in reverse phase HPLC (% of total carotenoids)	27
2.19	Carotenoids composition of the ripe fruits of five Capsicum annuum cultivars (mg/kg dry matter)	28
2.20	แสดงปริมาณ carotenoid ที่พบในพริกทั้ง 8 ชนิด	31
2.21	Percentage composition (mean ±SD) in fatty Acids of the pericarp and Seeds during the processing stages for paprika (Capsicum annuum L.) Jaranda and Jariza Varieties.	32
2.22	volatile compounds indentified in sex varities of Calabrian	33
2.23	volatile fraction cpmposition as single coponents and classes of substances of different varities of Calabrian Capsicum annuum	34
2.24	Total Capsaicinoids Content, Total Volatile Content, and Overall Aroma Description of the Evaluated Capsicum Accessions	35
3.1	ค่าพื้นที่ใต้กราฟ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ของแต่ละความเข้มข้นในช่วงความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน capsaicin ที่ความเข้มข้น 25, 50, 100, 150, 200 และ 500 ppm	45
3.2	ค่าพื้นที่ใต้กราฟ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ของแต่ละความเข้มข้นในช่วงความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน dihydrocapsaicin 20.7, 41.4, 82.8, 124.2, 165.6 และ 414 ppm	46
3.3	ปริมาณ capsaicin และ dihydrocapsaicin ในตัวอย่างพริกที่ปลูกในประเทศไทย	48
3.4	ค่าพื้นที่ใต้กราฟ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ของแต่ละความเข้มข้นในช่วงความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน capsanthin ที่ความเข้มข้น 1, 25, 50, 75 และ 100 ppm	69
3.5	ค่าพื้นที่ใต้กราฟ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ของแต่ละความเข้มข้นในช่วงความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน beta-carotene 1, 5, 10, 30 และ 50 ppm	69
3.6	ค่าการวิเคราะห์หาค่าร้อยละการคืนกลับ (% Recovery) ของ capsanthin ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 75 ppm	71

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
3.7	ค่าการวิเคราะห์หาค่าร้อยละการคืนกลับ (% Recovery) ของ beta-carotene ที่ความเข้มข้น 5, 10 และ 30 ppm	71
3.8	ปริมาณ capsanthin และbeta-carotene ในตัวอย่างพริกที่ปลูกในประเทศไทย	72
3.9	สาร VOC ในกลุ่ม Hydrocarbon	96
3.10	สาร VOC ในกลุ่ม ester	97
3.11	สาร VOC ในกลุ่ม alcohol	98
3.12	สาร VOC ในกลุ่ม aldehyde	98
3.13	สาร VOC ในกลุ่ม ketone	99
3.14	สาร VOC ในกลุ่ม acid	99
4.1	แสดงจำนวนตัวอย่างพริกในแต่ละ Cluster	101
4.2	แสดงข้อมูลปริมาณสารในการจัดกลุ่มข้อมูลเบื้องต้นด้วยวิธี Two-step cluster	101
ก-1	Some performances and yield of chilli 326 accessions grown during September 2010 to March 2011 at TVRC/KU/KPS	104
ก-2	Some performances and yield of chilli 326 accessions grown during September 2010 to March 2011 at TVRC/KU/KPS	123
ก-3	ตัวอย่างพริกที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสาร Capsaicinoids, Capsiate, Capsanthin, Beta-carotene, Fatty acid และ VOC จำนวน 201 สายพันธุ์	145
ข-1	แสดงการคำนวณหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Detection limit) ของ capsaicin	153
ข-2	แสดงการคำนวณหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Detection limit) ของ dihydrocapsaicin	155
ข-3	ผลการวิเคราะห์พริกตามหลักการของ Scoville Heat Unit	157
ค-1	การแบ่งกลุ่มของพริกโดยใช้ปริมาณของ capsanthin	163
ค-2	การแบ่งกลุ่มของพริกโดยใช้ปริมาณของ beta-carotene	171
ง-1	สาร VOC ในกลุ่ม Ester, Ketone และ Acid	180
ง-2	สาร VOC ในกลุ่ม Aldehyde และ Alcohol	186
ง-3	สาร VOC ในกลุ่ม Hydrocarbon	192
จ-1	การจัดกลุ่มข้อมูลเบื้องต้นของพริกแต่ละสายพันธุ์ด้วยวิธี Two-step cluster	223

บทสรุปย่อสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary)

จากการศึกษาวิจัยพริกมากกว่า 200 สายพันธุ์ พบว่าสามารถแบ่งพริกออกได้เป็น 4 กลุ่มคือพริกในกลุ่มที่ 1 มีปริมาณ capsaicin และ dihydrocapsaicin เฉลี่ยสูงกว่าพริกในกลุ่มอื่น พริกในกลุ่มที่ 2 มีปริมาณ capsanthin และ beta-carotene เฉลี่ยสูงกว่าพริกในกลุ่มอื่น พริกในกลุ่มที่ 3 มีปริมาณ capsaicin และ dihydrocapsaicin เฉลี่ยในปริมาณที่ค่อนข้างสูง แต่มีปริมาณ capsanthin และ beta-carotene เฉลี่ยค่อนข้างต่ำ พริกในกลุ่มที่ 4 มีปริมาณ capsaicin, dihydrocapsaicin, capsanthin และ beta-carotene เฉลี่ยในปริมาณที่ต่ำกว่าพริกในกลุ่มอื่นทุกกลุ่ม

ทั้งนี้พบว่าพริก CA1814 มีปริมาณ capsaicin และ dihydrocapsaicin มากที่สุด เท่ากับ 1060.8±40.5 mg/100 g และ 481.14±18.40 mg/100g ของพริกแห้ง และพริก CA1734 มีปริมาณ capsanthin 68±2.49 mg/100g และปริมาณ beta-carotene 57.7±1.7 mg/100g ซึ่งทำให้พริกสองสายพันธ์นี้มีแนวโน้มที่ดีในการใช้ศึกษาการสกัดและการนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคต และสารในกลุ่ม alkyl butanoate น่าที่จะเป็นสารที่มีความสำคัญกับกลิ่นของพริกในปัจจุบัน

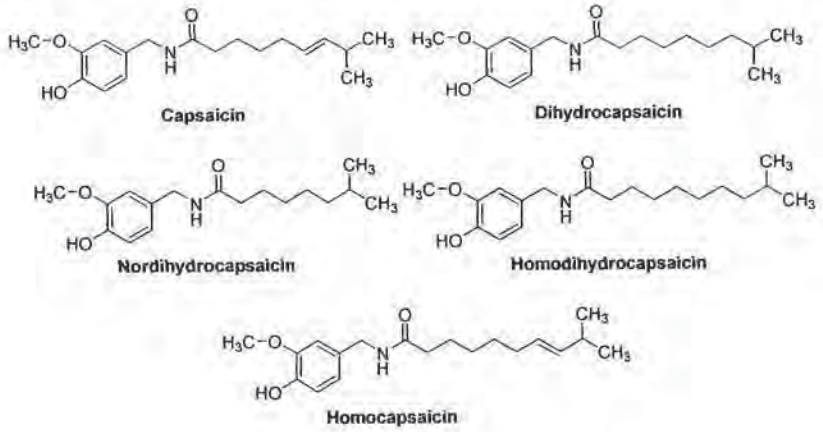
บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

พริกเป็นพืชที่มีปริมาณการปลูกและบริโภคมากในประเทศไทย จากข้อมูลรายงานการเพาะปลูกของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรในปีเพาะปลูก 2549/2550 พบว่า มีพื้นที่ปลูกรวมทั้งประเทศ 474,717 ไร่ และมีการปลูกพริก 5 ชนิดคือ พริกขี้หนูเม็ดเล็ก พริกขี้หนูเม็ดใหญ่ พริกยักษ์ พริกหยวก และพริกใหญ่ ได้ผลผลิตสดรวม 333,672 ตัน/ปี พริกที่ปลูกมากที่สุด คือ พริกขี้หนูเม็ดเล็ก และพริกขี้หนูเม็ดใหญ่ โดยแหล่งผลิตสำคัญอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และจากสถิติของกรมศุลกากรปี 2549 พบว่า มีการส่งออกพริก คิดเป็นมูลค่า 2,161 ล้านบาท [1]

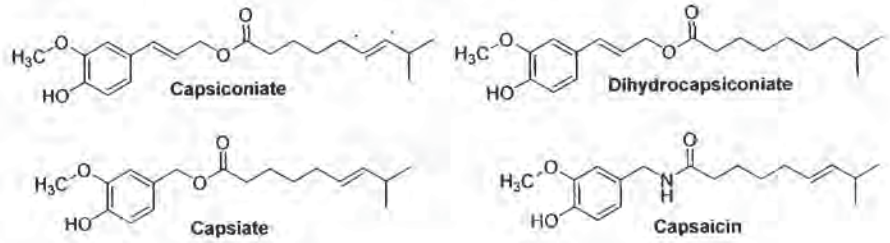
ดังนั้นในปัจจุบัน พริกหลากหลายประเภทที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศ และต่างประเทศ จึงได้มีการส่งเสริมให้ปลูกในประเทศมากขึ้น โดยพริกที่ปลูกมีทั้งแบบ พริกกินสด พริกแห้ง และ พริกเพื่อการส่งออกโดยเฉพาะ นอกจากนี้ พริกเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูง เช่น วิตามินซี วิตามินเอ วิตามินบีรวม และวิตามินอี ร่วมกับมีแร่ธาตุโมลิบดีนั่ม แมงกานีส โพเลต โพแทสเซียม และไตเอมีน โดยที่สารเบต้า-แคโรทีนอยด์ วิตามินซี และวิตามินเอในพริกเป็นสารแอนติออกซิเดนซ์ที่มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี [2] นอกจากการบริโภคแล้วพริกยังมีสรรพคุณทางยาที่มีประโยชน์ทั้งในมนุษย์และสัตว์ เพราะพริกมีกลุ่มของสารสำคัญหลายกลุ่มเป็นองค์ประกอบ เช่น พริกที่เผ็ด จะมีสารที่ให้ความเผ็ดจากกลุ่มสารแคปไซซินอยด์ประกอบด้วยสารให้ความเผ็ด 2 ชนิดหลัก คือ สารแคปไซซิน (capsaicin) และสารไดไฮโดรแคปไซซิน (dihydrocapsaicin) ที่เหลือเป็นสารให้ความเผ็ดรอง ได้แก่ สารนอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน (nordihydrocaosaicin) สารโฮโมไดไฮโดรแคปไซซิน (homodihydrocapsaicin) และสารโฮโมแคปไซซิน (homocapsaicin) [3] แสดงในภาพ 1.1



ภาพ 1.1 โครงสร้างทางเคมีของแคปไซซินอยด์

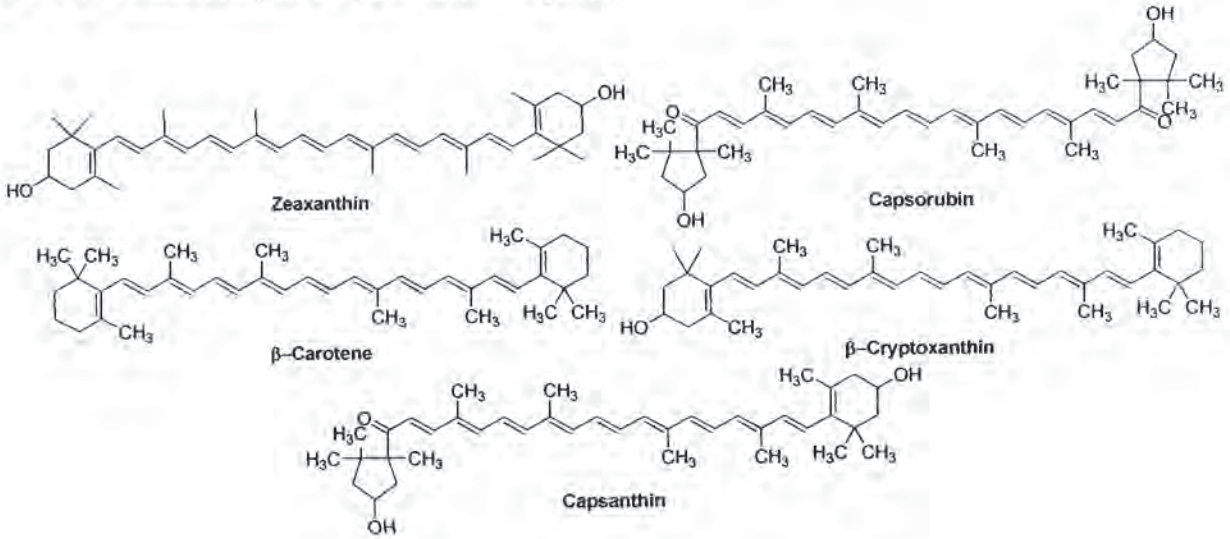
โดยสมบัติที่มีประโยชน์ของสารแคปไซซินอยด์จึงมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและการรักษาโรค [4] อาทิ เช่น ลดความเจ็บปวดของกล้ามเนื้อ หัวไหล่ แขน บั้นเอว และส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย [5] แต่การใช้ในปริมาณที่มากเกินไปอาจมีผลกระทบต่ออาการหยุดชะงักการทำงานของกล้ามเนื้อได้เช่นกัน เพื่อความปลอดภัย USFDA ได้กำหนดให้ใช้สาร capsaicin ได้ ที่ความเข้มข้น 0.75 % สำหรับเป็นยารักษาโรค [6]

นอกจากสารให้ความเผ็ดจากสารแคปไซซินอยด์แล้ว ในพริกที่ไม่มีความเผ็ดยังมีสารกลุ่มแคปซินอยด์ (capsinoids) เช่น CH-19 sweet [7] แสดงในภาพ 1.2 ซึ่งเป็นสารที่มีโครงสร้างคล้ายกับสารกลุ่มแคปไซซินอยด์แต่แตกต่างที่พันธะเอสเตอร์ของ vanillyl alcohol ในส่วนของหมู่ fatty acid ทำให้สารกลุ่มนี้จึงมีความเผ็ดที่ต่ำกว่า [8] และมีความสามารถในการกำจัดไขมันที่สะสม ชักนำให้เกิดกระบวนการอะพอพโทซิส (Apoptosis) เป็นสารต้านโรคมะเร็ง และมีสมบัติเป็นสารแอนติออกซิเดนซ์ [9-14] และคุณสมบัติที่ดีของสารแคปซินอยด์จึงมีการนำมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร



ภาพ 1.2 โครงสร้างทางเคมีของแคปซินอยด์

นอกจากแคปไคซินนอด์ และแคปซินอยด์แล้ว สีของพริกซึ่งเป็นสารประกอบในกลุ่ม carotenoids แสดงในภาพ 1.3 โดยสารสกัดสีในพริกได้มีการนำมาใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหารทั้งการปรุงแต่งรสชาติ และสีสัน (colouring spice) ตามความต้องการของผู้บริโภคหลากหลายผลิตภัณฑ์ ตัวอย่างเช่น ไส้กรอกและเนื้อ ตลอดจนใช้ในชีสต์ บัตเตอร์ น้ำสลัด ส่วนผสมของเครื่องปรุงรส ขนมวุ้น และอาหารแปรรูป [15]



ภาพ 1.3 โครงสร้างทางเคมีของสารสีในพริก

นอกจากสารให้ความเผ็ด และสารให้สีแล้ว พริกยังมีกรดไขมันสะสมอยู่ โดยแบ่งออกเป็น 2 ประเภท [16] คือ กรดไขมันสายสั้น และสายปานกลาง (short and medium chain fatty acid , SCFA-MCFA) มีคาร์บอนน้อยกว่า 12 คาร์บอน ส่วนกรดไขมันสายยาว (long chain fatty acid , LCFA) มีคาร์บอนมากกว่า 12 คาร์บอน ซึ่งกรดไขมันสายสั้น และสายปานกลางมีประโยชน์ต่อการบริโภคต่างๆ เนื่องจากมีค่าแครอลีต่ำกว่าไขมันและน้ำมันทั่วไป [17] จึงมีประโยชน์ในด้านการควบคุมน้ำหนัก เนื่องจากกรดไขมันดังกล่าวไม่สามารถเปลี่ยนไปเป็น triacylglycerol เอสเทอร์ตัวใหม่ได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นการ

สะสมกรดไขมันเหล่านี้ในร่างกายในลักษณะของไขมันจึงมีโอกาสที่น้อยมาก [18] นอกจากนี้ กรดไขมันสายสั้นนี้ยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น มีบทบาทในการต่อต้าน potential pathogenic หรือ opportunistic microorganisms สามารถยับยั้งการเจริญหรือฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยตรง [19] เป็นต้น

นอกจากสารให้ความเผ็ด สารสี และกรดไขมันสายสั้นจะมีประโยชน์มากมายแล้ว ยังมีสารหอมระเหยในพริก (Volatile compounds) ยังเป็นสารอีกกลุ่มหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการบริโภคพริก โดยสารหอมระเหยในพริกจะส่งผลต่อการรับกลิ่นผ่านทางจมูก ที่เรียกว่า Orthonasal pathway เมื่อสารหอมระเหยผ่านกระบวนการดังกล่าว จะไปกระตุ้นสมองส่วนความต้องการอยากอาหาร จึงทำให้การบริโภคมีรสชาติดียิ่งขึ้น ดังนั้นจึงทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะศึกษาหาองค์ประกอบของสารหอมระเหยที่อยู่ในพริก [20]

จากข้อมูลที่ได้กล่าวมาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าสาระสำคัญในพริกมีประโยชน์ ต่ออุตสาหกรรมอาหาร การเกษตรกรรม และทางการแพทย์ จากงานวิจัยเกี่ยวข้องกับสารสำคัญในพริกสายพันธุ์ต่างๆในประเทศไทยนั้น จะเป็นการวิเคราะห์หาปริมาณสารชนิดใดชนิดหนึ่ง แต่ยังไม่มีรายงานว่าการหาปริมาณสารสำคัญทั้งหมดในพริกแต่ละสายพันธุ์ว่ามีปริมาณมากน้อยเพียงใด ทั้งนี้ปริมาณสารที่สะสมในผลของพริกจะมีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น พันธุ์ อายุการเก็บเกี่ยว แหล่งปลูก สภาพอากาศ ฤดูกาลที่ปลูก และการดูแลรักษา ด้วยเหตุนี้การทราบข้อมูลเบื้องต้นของสารสำคัญต่างๆ ในพริก จะทำให้การเลือกใช้ชนิดของพันธุ์พริกที่เหมาะสมให้ถูกกับการใช้งานในด้านต่างๆ ส่งผลให้เกิดความคุ้มค่าทางการลงทุนในเชิงอุตสาหกรรม และทำให้มีการใช้ประโยชน์ของพริกที่มีในประเทศได้ถูกต้อง และมีประสิทธิภาพสูงสุด

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อตรวจสอบหาชนิดและปริมาณสารสำคัญต่างๆในพริกที่ปลูกในประเทศไทยเพื่อเป็นข้อมูลในการบริโภคและการนำไปใช้ประโยชน์

1.3 แนวทางและขั้นตอนการดำเนินงาน

1.3.1 เพาะกล้าพริกทั้งหมด 200 ชนิด ที่ประกอบไปด้วยพริกที่เผ็ด และพริกที่ไม่เผ็ด

1.3.2 ปลูกพริกลงในแปลง

1.3.3 เก็บเกี่ยวผลผลิตให้ได้ในปริมาณ 600-1000 g

1.3.4 ตากผลพริกที่สมบูรณ์ในที่ร่มและอบที่ 55 °c จนน้ำหนักคงที่เพื่อวิเคราะห์หาสารสำคัญ

1.3.5 วิเคราะห์หาปริมาณสารในกลุ่ม capsaicinoids ในพริกกลุ่มตัวอย่างด้วย HPLC technique

1.3.6 วิเคราะห์หาปริมาณสาร capsiate

1.3.6.1 สังเคราะห์สาร capsiate เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐาน

1.3.6.2 optimization method ในการวิเคราะห์หาปริมาณสาร capsiate

1.3.6.3 วิเคราะห์หาปริมาณสาร capsiate ในพริกกลุ่มตัวอย่างด้วย HPLC technique

1.3.7 วิเคราะห์หาปริมาณสาร beta-carotene ในพริกกลุ่มตัวอย่างด้วย HPLC technique

1.3.7.1 optimization method ในการวิเคราะห์หาปริมาณสาร beta-carotene

1.3.7.2 วิเคราะห์หาปริมาณสาร beta-carotene ในพริกกลุ่มตัวอย่างด้วย HPLC technique

1.3.8 วิเคราะห์หาปริมาณสาร capsanthin

1.3.8.1 สกัดและแยกสาร capsanthin จาก *Capsicum Fructescens L.*

1.3.8.2 วิเคราะห์หาปริมาณสาร capsanthin ในพริกกลุ่มตัวอย่างด้วย HPLC technique

1.3.9 วิเคราะห์หาปริมาณสารในกลุ่ม fatty acid C8-C10

1.3.9.1 สังเคราะห์สารในกลุ่ม short chain fatty acid เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐาน

1.3.9.2 optimization method ในการวิเคราะห์หาปริมาณ fatty acid C8-C10

1.3.9.3 วิเคราะห์หาปริมาณสารในกลุ่ม fatty acid ในพริกกลุ่มตัวอย่างด้วย GC-MS technique

1.3.10 วิเคราะห์หาปริมาณ Volatile organic compounds (VOC) ในพริกกลุ่มตัวอย่างด้วย HS-SPME GC-MS technique

1.3.10.1 optimization method ในการวิเคราะห์หาปริมาณ Volatile organic compounds (VOC)

1.3.10.2 วิเคราะห์หาปริมาณ Volatile organic compounds (VOC) ในพริกกลุ่มตัวอย่างด้วย HS-SPME GC-MS technique

1.3.6.11 ทำการวิเคราะห์ข้อมูลของปริมาณสารสำคัญต่างๆในพริกด้วยวิธีการทางสถิติ

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับเมื่อการดำเนินงานเสร็จสิ้นที่เป็นรูปธรรม และตัวชี้วัดความสำเร็จของโครงการ

ได้ข้อมูลของชนิดและปริมาณสารสำคัญในพริกที่ปลูกในประเทศไทยเพื่อสามารถนำไปทำเป็นฐานข้อมูลการนำไปใช้ประโยชน์จากพริกในประเทศไทย

1.5 กระบวนการผลักดันผลงานดังกล่าวออกสู่การใช้ประโยชน์

1.5.1 เผยแพร่ผลงานวิจัยผ่านการประชุมทางวิชาการ

1.5.2 เผยแพร่ผลงานวิจัยในวารสารวิชาการ 1 ฉบับ

1.6 เอกสารอ้างอิง (References)

1. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. 2012. การคัดเลือกพันธุ์และการแปรรูปพริกในเมืองไทย ตอน 1 และ 2. (ออนไลน์). http://www.nstda.or.th/vdo-nstda/sci-house/1012–1 และ http://www.nstda.or.th/vdo-nstda/sci-house/1012–2. March 24, 2012.

2. Simonne, A. H,; Simonne, E. H,; Eitenmiller, R. R,; Mills, H. A,; Green, N. R. Ascorbic acid and pro-vitamin A contents in unusually colored bell peppers (Capsicum annuum L.). *J Food Compo Anal*. **1997**, 10, 299–311.

3. สัมพันธ์ คัมภิรานนท์. 2546. พริกเรื่องเผ็ดร้อนที่น่ารู้. **Up DATE** 18(191): 45-54.

4. Ochoa-Alejo, N,; Ramírez-Malagón, R. In vitro chilli pepper biotechnology. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*. **2001**, 37, 701–29.

5. Wikipedia. 2009. Capsaicin. **The free encyclopedia**. Available Source http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Capsaicin-structure.png, September 16, 2009.

6. Wikipedia. 2012. พริก. **The free encyclopedia**. Available Source http://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B8%9E%E0%B8%A3%E0%B8%B4%E0%B8%81, March 24, 2012.

7. Kenji Kobata, Tomoko Todo, Susumu Yazawa, Kazuo Iwai, and Tatsuo Watanabe. Novel Capsaicinoid-like Substances, Capsiate and Dihydrocapsiate, from the Fruits of a Nonpungent Cultivar, CH-19 Sweet, of Pepper (Capsicum annuum L.). J. Agric. Food Chem. **1998**. 46, 1695–1697.

8. Iida, T.; Moriyama, T.; Kobata, K.; Morita, A.; Murayama, N.Hashizume, S.; Fushiki, T.; Yazawa, S.; Watanabe, T.; Tominaga, M. TRPV1 activation and induction of nociceptive response by a non-pungent capsaicin-like compound, capsiate. *Neuropharmacol.* **2003**, 44, 958–967.

9. Kawabata, F.; Inoue, N.; Yazawa, S.; Kawada, T.; Inoue, K.; Fushiki, T. Effects of CH-19 sweet, a non-pungent cultivar of red pepper, in decreasing the body weight and suppressing body fat accumulation by sympathetic nerve activation in humans. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2006**, 70, 2824–2835.

10. Onuki, K.; Haramizu, S.; Oki, K.; Watanabe, T.; Yazawa, S.; Fushiki, T. Administration of capsiate, a non-pungent capsaicin analog, promotes energy metabolism and suppresses body fat accumulation in mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2001**, 65, 2735–2740.

11. Macho, A.; Sancho, R.; Minassi, A.; Appendino, G.; Lawen, A.; Mu~noz, E. Involvement of reactive oxygen species in capsaicinoid induced apoptosis in transformed cells. *Free Radical Res.* **2003**, 37, 611–619.

12. Macho, A.; Lucena, C.; Sancho, R.; Daddario, N.; Minassi, A.; Mu~noz, E.; Appendino, G. Non-pungent capsaicinoids from sweet pepper, synthesis and evaluation of the chemopreventive and anticancer potential. *Eur. J. Nutr.* **2003**, 42, 2–9.

13. Masuda, Y.; Haramizu, S; Oki, K; Ohnuki, K.; Watanabe, T.; Yazawa, S.; Kawada, T.; Hashizume, S. Upregulation of uncoupling proteins by oral administration of capsiate, a nonpungent capsaicin analog. *J. Appl. Physiol.* **2003**, 95, 2408–2415.

14. Rosa, A.; Deiana, M.; Casu, V.; Paccagnini, S.; Appendino, G.; Ballero, M.; Dessi, M. A. Antioxidant activity of capsinoids. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 7396–7401.

15. Govindarajan, V. S. Capsicum—production, technology, chemistry and quality. III. Chemistry of the color, aroma, and pungency stimuli. *Crit Rev Food Sci Nutr.* **1986**, 4, 245–355.

16. บริษัท กรุงเทพ พยาธิ-แลป จำกัด. 2012. CHOLESTEROL –TRIGLYCERIDES AND HEALTHY HEART. (ออนไลน์). http://www.yourhealthyguide.com/article/aco-cholesterol-triglyceride.htm. March 24, 2012.

17. Robert E. Smith, John W. Finley, and Gilbert A. Overview of SALATRIM: A family of low-calorie fats Leveille. Journal of Agricultural and Food Chemistry. **1994**. 42, 432-434.

18. Osborn, H.T. and Akoh, C.C. Enzymatically modified beef tallow as a substitute for cocoa butter. J. of Food Science. **2002**, 2480-2485

19. F. Van Immerseel, J. De Buck, F. Boyen, L. Bohez, F. Pasmans, J. Volf, M. Sevcik, I. ychlik, F. Haesebrouck and R. Ducatelle. Medium-Chain Fatty Acids Decrease Colonization and Invasion through *hilA* Suppression Shortly after Infection of Chickens with *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis Appl. Environ. Microbiol. **2004.** 70, 3582-3587.

[20] S & T News >> United States. 2012. กลิ่นและรสของอาหารกับพฤติกรรมการบริโภค. (ออนไลน์). http://ostc.thaiembdc.org/news_us/Apr53_3.html#top. March 24, 2012.

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทั่วไปของพริก

พริก เป็นพืชในตระกูล *Solanaceae* มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Capsicum frutescens L.* ชื่อภาษาอังกฤษว่า Chilli peppers, chili, chile หรือ chilli มาจากคำภาษาสเปน ว่า chile โดยส่วนมากแล้ว ชื่อเหล่านี้มักหมายถึง พริกที่มีขนาดเล็ก ส่วนพริกขนาดใหญ่ที่มีรสอ่อนกว่าจะเรียกว่า Bell Pepper ในสหรัฐอเมริกา Pepper ในประเทศอังกฤษและไอร์แลนด์, capsicum ในประเทศอินเดียกับออสเตรเลีย และ Paprika ในประเทศทวีปยุโรปหลายประเทศ พริกชนิดต่างๆ มีต้นกำเนิดมาจากทวีปอเมริกา ซึ่งในปัจจุบันนี้ได้มีปลูกกันในหลายประเทศทั่วโลก พริกเป็นพืชล้มลุกที่มีขนาด รูปร่าง และสีของผล แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และอายุของพริก ซึ่งความเผ็ดไม่มีความสัมพันธ์กับขนาดของผล เช่น พริกขี้หนูมีรูปร่างยาวรี ขนาดผลเล็ก แต่มีฤทธิ์ของความเผ็ดมาก ต่างกับพริกหยวกที่มีขนาด ยาว และใหญ่กว่า แต่มีฤทธิ์ของความเผ็ดน้อยกว่า [1]

โดย Purseglove และคณะ [2] ได้จำแนกพริกที่มีการปลูกกันอยู่ในโลกออกเป็น 5 ชนิด คือ *Capsicum annuum* L., *C. frutescens* L., *C. pubescens* Ruiz & Pavon, *C. baccatum* L. และ *C. chinense* Jacq.

C. annuum L. เป็นพริกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากที่สุด ลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก ลำต้นตั้งตรง มีกิ่งข้างมาก ทรงพุ่มสูงประมาณ 45-100 เซนติเมตร มักปลูกเป็นแบบพืชฤดูเดียว โดยทั่วไปดอกจะมีสีขาว แต่มีบางพันธุ์ที่มีดอกสีม่วง ออกดอกบริเวณข้อ ข้อละดอก ลักษณะของก้านดอกหรือก้านผลค่อนข้างเรียว กลีบรองดอกดูคล้ายจะหดตัวหรือย่นเข้าเนื่องจากการเจริญเติบโตของผล [3] ผลเป็นแบบ indehiscent berry ภายในมีเมล็ด จำนวนมาก รูปร่างขนาดและสีของผลไม่แน่นอน รูปร่างของผลมีทั้งผอมยาว รูปกรวย หรือรูปกลม ขนาดผลกว้างกว่า 8 มิลลิเมตร ยาว 0.8-30.0 เซนติเมตร ผลขณะอ่อนอยู่มีสีเขียว เหลือง หรือม่วง แต่เมื่อแก่จะมีสีแดง ส้ม น้ำตาล หรือม่วงแดง เช่น พริกชี้ฟ้า พริกหวาน และพริกยักษ์ เป็นต้น [4]

C. frutescens L. เป็นพืชที่มีปลูกแพร่หลายในเขตเส้นศูนย์สูตรของโลก รวมทั้งเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พันธุ์ที่รู้จักกันดีของพริกชนิดนี้ คือ พันธุ์ Tabasco ซึ่งมีปลูกมากในสหรัฐอเมริกาและในประเทศเขตร้อนของโลก *C. frutescens* L. เป็นพริกที่มีความเผ็ดมากกว่า *C. annuum* L. มีลักษณะเป็นพุ่มไม้ขนาดเล็ก ลักษณะทรงพุ่มโดยทั่วไปคล้ายกับ *C. annuum* L. แต่แตกต่างกันที่ลักษณะการเจริญเติบโตของผล [4] กลีบดอกมีสีเขียวอมเหลือง ติดดอกข้อละประมาณ 1-3 ดอก ก้านดอกตั้งตรงและชัน ผลมีรูปร่างเรียว ฐานรองดอกเรียบ ผลจะมีขนาดเล็กและยาว ผลกว้างประมาณ 0.3–1.0 เซนติเมตร ยาว 0.7–3.0 เซนติเมตร บางครั้งอาจพบผลใหญ่กว่านี้ ผลขณะอ่อนอยู่มีสีเขียวหรือเหลือง แต่จะเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่อแก่ เช่น พริกขี้หนูสวน เป็นต้น [3]

C. pubescens Ruiz & Pavon นิยมปลูกมากในแถบภูเขาแอนดีสและบนที่สูงของอเมริกากลาง เนื่องจากพริกชนิดนี้สามารถทนต่อความหนาวได้ แต่อย่างไรก็ตามพบว่า พริกชนิดนี้สามารถปลูกในที่ราบได้เช่นกัน แต่พบว่า การติดผลจะไม่ดีเมื่อปลูกในแถบร้อน [5] พริกชนิดนี้มีผลที่มีเนื้อหนา มีเปอร์เซ็นต์ของน้ำสูงแต่มีรสเผ็ด ซึ่งลักษณะของพริกชนิดนี้ คือ มีกลีบดอกสีม่วง ไม่มีจุดและผลสีดำ [6] พันธุ์ที่ใช้ปลูกมีการแพร่กระจายน้อยกว่าพริกชนิดอื่น จากการสำรวจและรวบรวมพันธุ์พริกในประเทศไทยพบว่า อาจมีพริกชนิดนี้อยู่เพียงพันธุ์เดียว เรียกว่า พริกขาวดำ [7]

C. baccatum L. มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศโบลิเวีย และมีการกระจายพันธุ์ไปยังประเทศเปรู อาร์เจนตินา บราซิล ตอนใต้ รัฐฮาวายและตอนใต้ของประเทศสหรัฐอเมริกา อินเดียและยุโรป แต่ไม่เป็นที่นิยมในทวีปเอเชียและแอฟริกา ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ *C. annuum* L. และ *C. frutescens* L. ได้รับความนิยมอยู่แล้ว [8] ลักษณะทั่วไปของพริกชนิดนี้ คือ มีกลีบดอกสีขาวและมีจุดสีเหลืองที่กลีบดอก [6]

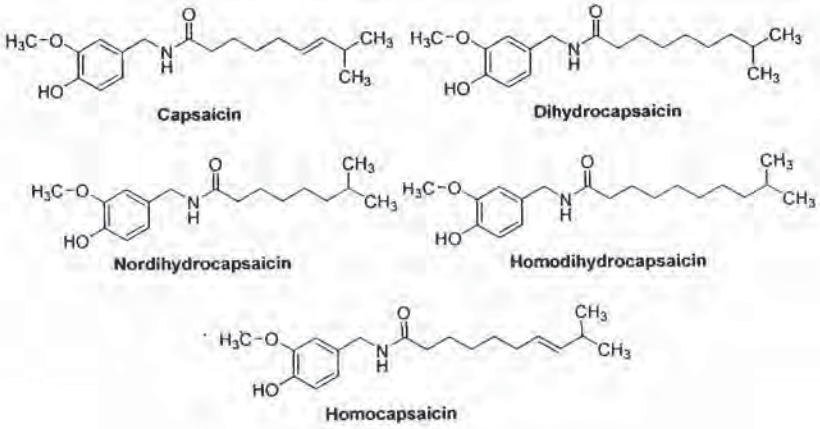
C. chinense Jacq. เป็นพริกที่มีความสำคัญในแถบภูเขาแอนดีสในอเมริกาใต้ การกระจายพันธุ์ของพริกชนิดนี้พบมากในบริเวณลุ่มแม่น้ำอเมซอน [9] พริกชนิดนี้มีลักษณะของผลหลายแบบ พริกที่มีผลใหญ่.เนื้อหนาใช้รับประทานสด พริกที่เนื้อบางใช้ทำพริกแห้ง ส่วนพริกผลเล็กมีกลิ่นและรสเผ็ดจัด [8] พริกชนิดนี้มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์คล้ายกับ *C. annuum* L. และ *C. frutescens* L. กลีบดอกมีสีเขียวอ่อน มีสองดอกหรือมากกว่าสองดอกต่อข้อ เมื่อผลแก่จะมีรอยคอดที่กลีบเลี้ยงติดกับก้านของผล [6]

ส่วนพริกที่นิยมปลูกในประเทศไทยนั้นมีอยู่ 2 ชนิด คือพันธุ์ *Capsicum annuum* ได้แก่ พริกมัน พริกหยวก พริกสิงคโปร์ พริกไส้ปลา และพริกชี้ฟ้า และพันธุ์ *Capsicum frutescens* ได้แก่ พริกขี้หนูสายพันธุ์ต่าง ๆ [10]

2.2 สารสำคัญในพริก

2.2.1. สารให้ความเผ็ดในพริก

สารให้ความเผ็ดในพริกเกิดจากสารกลุ่มแคปไซซินอยด์ (capsaicinoids) ซึ่งโดยทั่วไป สารกลุ่มแคปไซซินอยด์ในพริกประกอบด้วยสารให้ความเผ็ด 2 ชนิดหลัก คือ capsaicin และ dihydrocapsaicin และสารให้ความเผ็ดรอง ได้แก่ nordihydrocapsaicin, homodihydrocapsaicin, homocapsaicin [1] ซึ่งมีความเผ็ดที่แตกต่างกันดังแสดงในตาราง 2.1 capsaicin มีชื่อทางเคมีว่า *N*-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-8-methyl-trans-6-enamide เป็นสารธรรมชาติจำพวกอัลคาลอยด์ (alkaloid) ที่มีโครงสร้างเป็น vanillyl amide มีสูตรโมเลกุล $C_{18}H_{27}NO_3$ มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 305.46 และจุดหลอมเหลวเท่ากับ 65 องศาเซลเซียส เมื่ออยู่ในรูปสารบริสุทธิ์ จะมีลักษณะเป็นผงสีขาว ไม่มีกลิ่น และไม่มีรส สามารถละลายในน้ำได้เล็กน้อย แต่จะละลายได้ดีในไขมัน น้ำมัน และแอลกอฮอล์ สามารถทนต่อความร้อนและความเย็นได้ ดังนั้นการต้มหรือการแช่แข็งจึงไม่มีผลทำให้ความเผ็ดสูญเสียไป และลักษณะกลิ่นหอมเฉพาะของพริกแต่ละชนิด เกิดจากน้ำมันหอมระเหยที่เรียกว่า โอลีโอเรซิน (oleoresin) ซึ่งพริกแต่ละพันธุ์จะมีสารเหล่านี้มากน้อยแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ [1,11] นอกจากการมีคุณสมบัติเผ็ดร้อนของสาร capsaicin แล้วยังมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอื่นๆ ที่สำคัญอีกมากมายเช่น ฤทธิ์ระงับปวด, ลดการติดเชื้อ, ลดการอักเสบ และกระตุ้นการเคลื่อนตัวของระบบทางเดินอาหารได้ เป็นต้น [12]

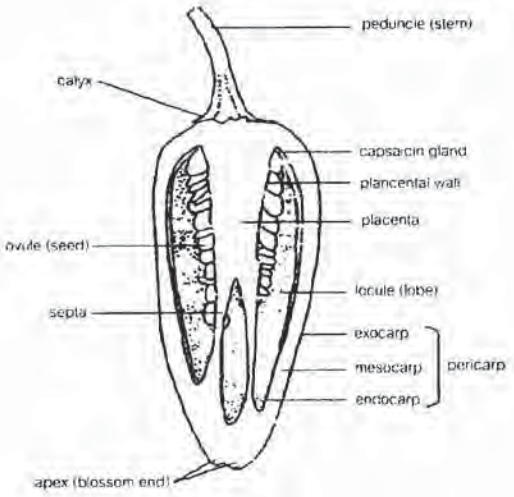


ภาพ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของแคปไซซินอยด์

ตาราง 2.1 ส่วนประกอบของแคปไซซินอยด์ [13]

ชื่อสารประกอบ	ปริมาณที่พบ (เปอร์เซ็นต์)	ความเผ็ด (หน่วยสโควิลล์)
capsaicin	69	16,000,000
dihydrocapsaicin	22	16,000,000
nordihydrocapsaicin	7	9,100,000
homodihydrocapsaicin	1	8,600,000
homocapsaicin	1	8,600,000

ความเผ็ดของพริกที่มาจาก capsaicin พบภายในผลซึ่งสร้างขึ้นจากส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อตรงบริเวณมุมระหว่างเยื่อแกนกลางสีขาว หรือเรียกว่า รกพริก (placenta) และส่วนผลของพริก (pericarp) [14] ดังแสดงในภาพ 2.2 และจะสะสมอยู่ในผลของพริก [15] ซึ่งปริมาณของสารให้ความเผ็ดในพริกจะมีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น พันธุ์ อายุการเก็บเกี่ยว แหล่งปลูก สภาพอากาศ ฤดูกาลที่ปลูก และการดูแลรักษา เป็นต้น โดยพบว่าปริมาณของสาร capsaicin ขึ้นอยู่กับระยะการสุกของผลพริกโดยผลอ่อนจะมีปริมาณสาร capsaicin น้อยมาก และจะเพิ่มขึ้นมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ในผลแก่ที่เปลี่ยนเป็นสีแดง [16-17] ซึ่ง Kim [15] ได้อธิบายว่าในช่วงที่ผลพริกมีการเจริญเติบโต capsaicinoid synthetase ซึ่งทำหน้าที่ในกระบวนการสร้างสาร capsaicin จะยังทำงานได้ไม่เต็มที่ ทำให้ปริมาณของสาร capsaicin ในพริกมีน้อย แต่หลังจากที่ผลพริกมีขนาดโตเต็มที่ และเริ่มมีการสุกแก่แล้ว capsaicinoid synthetase จึงจะสามารถทำงานได้เต็มที่พริกจึงมีปริมาณสาร capsaicin เพิ่มขึ้น



ภาพ 2.2 โครงสร้างของผลพริกและเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่สร้างสารที่ให้ความเผ็ดในพริก[13]

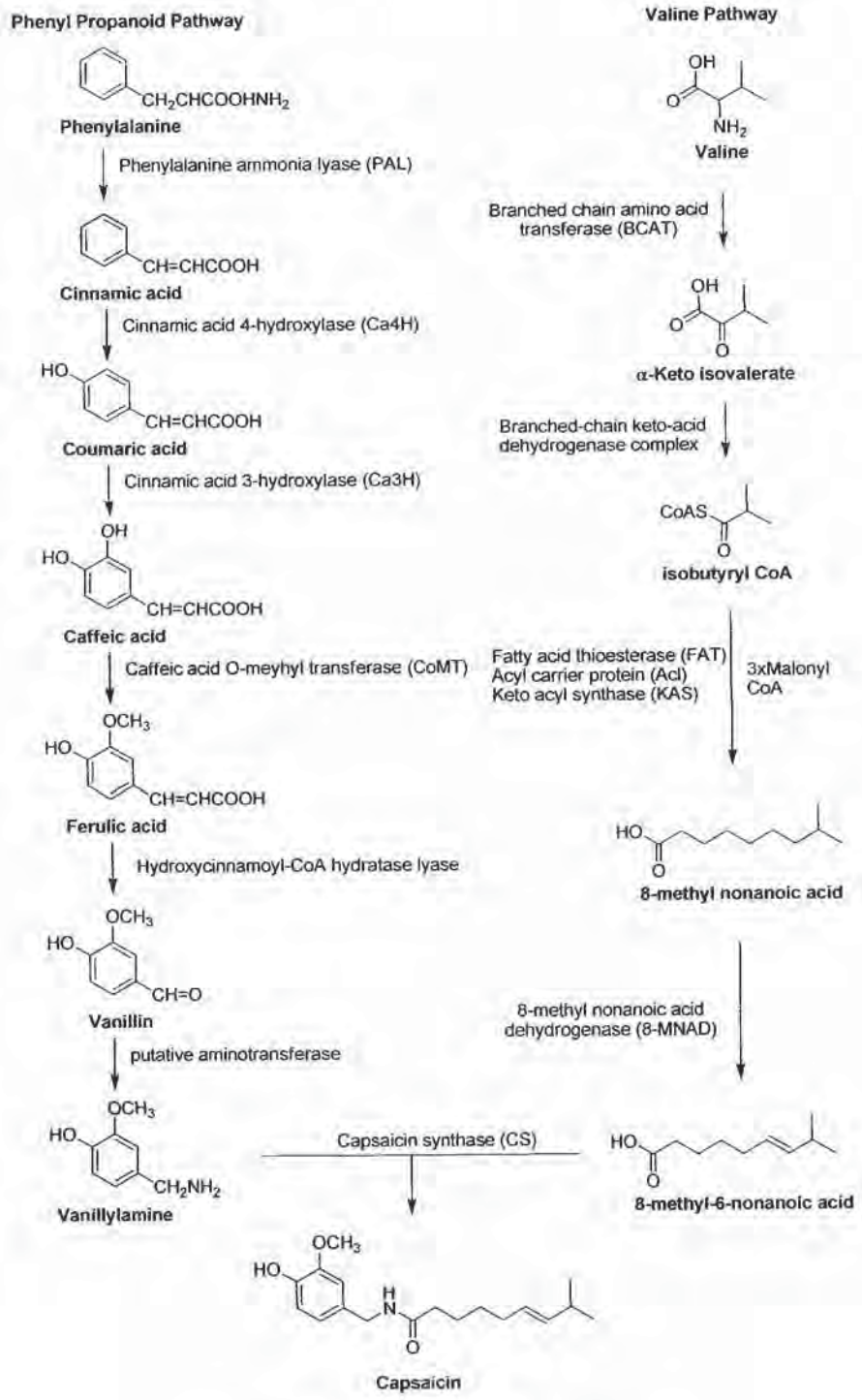
นอกจากนี้ชนิดและสายพันธุ์ของพริก ก็มีผลต่อปริมาณของสาร capsaicin เช่นกัน ซึ่งปริมาณของ capsaicin ในพริกแต่ละชนิดมีมากน้อยเรียงตามลำดับดังนี้ คือ พริกขี้หนู 18.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พริกเหลือง 16.7 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พริกชี้ฟ้า 4.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พริกหยวก 3.8 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และพริกหวาน (พริกยักษ์) 1.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ความเผ็ดของพริกจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณของสาร capsaicin ที่สูงขึ้น [1] ทั้งนี้เนื่องจากลักษณะทางพันธุกรรมมีผลต่อกระบวนการสร้างสารให้ความเผ็ดในพริก [18] ซึ่งสอดคล้องกับ Harvell และ Bosland [19] พบว่า capsaicin ในพริกจะมีปริมาณที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับลักษณะทางพันธุกรรมของพริก และสภาพแวดล้อมที่ได้รับ พริกพันธุ์เดียวกันหากนำไปปลูกในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ก็อาจทำให้มีระดับความเผ็ดที่แตกต่างกันได้

การประเมินความเผ็ดของพริกสามารถมีวิธีการประเมินได้ 2 วิธี คือ วิธีที่ 1 โดยใช้ผู้ทดลองชิม เป็นการวัดความเผ็ดของพริกตามข้อกำหนดของ Essential Oil Association (EOA) โดยใช้ผู้ทดสอบซึ่งมีประสบการณ์ชิมตัวอย่าง และรายงานปริมาณความเผ็ดในพริกเป็นหน่วยสโควิลล์ (Scoville Unit) ซึ่งกำหนดให้ 1 ส่วนในล้านส่วน (1 พีพีเอ็ม) ของ capsaicin ค่าเท่ากับ 15 หน่วยสโควิลล์ ดังนั้น capsaicin บริสุทธิ์จึงมีค่าความเผ็ดเท่ากับ 15,000,000 หน่วยสโควิลล์ [20] การวัดความเผ็ดด้วยวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่ายต่อการเตรียมและเสียค่าใช้จ่ายน้อย แต่มีข้อเสียหลายอย่าง คือ พริกทำให้เกิดความเผ็ดร้อนแก่ผู้ทดสอบ ทำให้ไม่สามารถชิมตัวอย่างได้มาก และอาจเกิดความผิดพลาดในการรับรสของผู้ทดสอบ [21] วิธีที่ 2 โดยการวิเคราะห์ปริมาณของสารให้ความเผ็ดด้วยเครื่องโครมาโทกราฟชนิดของเหลวความดันสูง (HPLC - high performance liquid chromatography) เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุด เนื่องจากเป็นวิธีที่รวดเร็วและแม่นยำในการวิเคราะห์ มีความละเอียดสูง สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ครั้งละมากๆ และสามารถแยกอนุพันธ์ของสารออกจากกันได้อย่างชัดเจนโดยไม่ต้องทำให้ตัวอย่างอยู่ในรูปที่บริสุทธิ์ [22]

โครงสร้างของสารแคปไซซินอยด์ประกอบด้วยส่วนของอะโรมาติกของ vanillyl amine และ fatty acid ที่มีความยาวแตกต่างกัน ความเผ็ดมีความแตกต่างกันอย่างมากในช่วงเผ็ดมากจนถึงหวาน ขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ของการแสดงออกของยีนที่สำคัญในกระบวนการ biosynthetic กับจำนวน capsaicinoids โดยกระบวนการสังเคราะห์ capsaicin เตรียมได้จากสองทาง จากการสังเคราะห์ส่วนของ fatty acid และส่วนของอะโรมาติก

กระบวนการสังเคราะห์ capsaicin เกิดจากการทำปฏิกิริยาคอนเดนเซชันของสารตัวกลาง ระหว่าง vanillyl amine จากกระบวนการ phenylpropanoid pathway และสาร 8-methyl-nonenoic acid จากกระบวนการ valine pathway

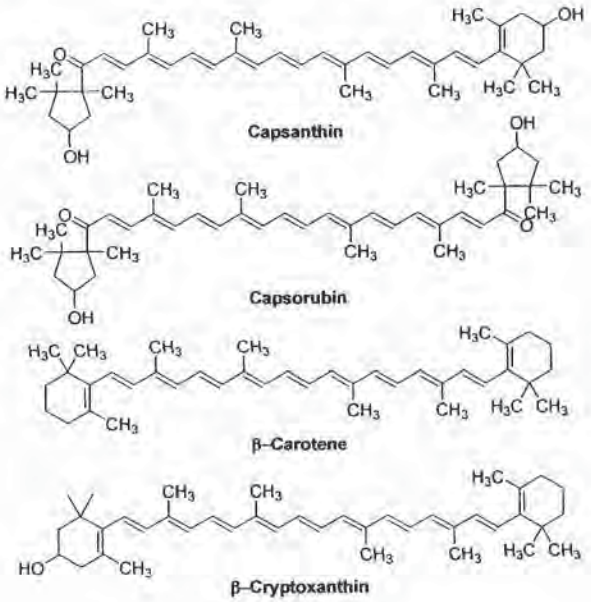
นำไปสู่สารผลิตภัณฑ์ capsaicin [23-26] กระบวนการสังเคราะห์ capsaicin แบ่งออกเป็นสองส่วน คือ ส่วนแรกการสังเคราะห์ vanillyl amine ผ่านทาง phenylpropanoid pathway แสดงในภาพ 2.3 เริ่มการสังเคราะห์จาก phenylalanine ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ phenylalanine ammonia lyase (PAL) เกิดเป็น cinnamic acid จาก cinnamic acid ทำปฏิกิริยาด้วยเอมไซม์ cinnamic acid 4-hydroxylase (Ca4H) เกิดเป็นอนุพันธ์ coumaric acid และทำปฏิกิริยากับเอมไซม์ coumaric acid 3-hydroxylase (Ca3H) ได้เป็น caffeic acid และเกิดการสังเคราะห์ ferulic acid ด้วยการทำปฏิกิริยากับเอมไซม์ caffeic acid O-methyl transferase (CoMT) จากนั้นสาร ferulic acid ทำปฏิกิริยาต่อกับเอมไซม์ hydroxycinnamoyl-CoA hydratase lyase เกิดเป็น vanillin และเปลี่ยน vanillin เป็น vanillylamine ด้วยปฏิกิริยาของเอมไซม์ putative aminotransferase ส่วนที่สองสังเคราะห์ผ่านทาง valine pathway เป็นการสังเคราะห์ 8-methyl-nonenoic acid โดยเริ่มจากการทำ degradation ตำแหน่งของหมู่ amino ของ valine ด้วยเอมไซม์ branched-chain amino acid aminotransferase (BCAT) ได้ผลิตภัณฑ์ของ 2-keto-isovalerate และทำปฏิกิริยากับเอมไซม์ branched-chain keto-acid dehydrogenase complex เปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ของ Isobutyryl-CoA จากนั้นทำปฏิกิริยากับ 3xMalonyl CoA, fatty acid thioesterase (FAT), acyl carrier protein (AcI) และ เอมไซม์ keto acyl synthase (KAS) เกิดเป็น 8-methyl nonanoic acid ขั้นสุดท้ายทำปฏิกิริยากับเอมไซม์ 8-methyl nonanoic acid dehydrogenase (8-MNAD) ได้อนุพันธุ์ของ 8-methyl-6-nonanoic acid จากสาร 8-methyl-6-nonanoic acid ที่เตรียมได้นี้จะเกิดปฏิกิริยา condensation กับสาร vanillylamine ที่สังเคราะห์จาก phenylpropanoid pathway ด้วยเอมไซม์ capsaicin synthase (CS) สุดท้ายจะได้สารผลิตภัณฑ์ของ capsaicin



ภาพ 2.3 Biosynthesis pathway ของ capsaicin

2.2.2 สารสีในพริก

พริกเป็นเครื่องเทศที่สำคัญชนิดหนึ่งที่ประชากรเกือบทั่วโลกใช้ในการประกอบอาหาร หรือใช้เป็นเครื่องปรุงแต่งอาหารให้มีสีสันน่ารับประทาน ซึ่งเป็นผลมาจากสารให้ความเผ็ด และสารสีในพริกคือ สารสีเหลือง สีส้ม และสีแดงที่ผลของพริก ได้แก่ แคปแซนทีน (capsanthin) แคปโซรูบิน (capsorubin) เบต้า-แคโรทีน (β-carotene) และเบต้า-คริปโตแซนทีน (β-cryptoxanthin) (ภาพ 2.4) โดยสารสีที่พบมากที่สุดในพริกคือ แคปแซนทีน มีปริมาณ 587.70 ไมโครกรัมต่อกรัม วัตถุดิบซึ่งเป็นสารสีที่ให้สีแดง มีจุดหลอมเหลวที่ 181-182 องศาเซลเซียส สารสีที่พบในปริมาณรองลงมาคือ เบต้า-แคโรทีน และเบต้า-คริปโตแซนทีน เป็นสารสีที่ให้สีเหลือง และสีแดงตามลำดับ [27] ดังแสดงในตาราง 2.2 สารสีดังกล่าวจัดเป็นสารจำพวกแคโรทีนอยด์ (carotenoids) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ที่มีปริมาณ pro-vitamin A สูง มีสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ [28] และมีสมบัติเป็นสารป้องกันมะเร็งได้อีกด้วย [29] แคโรทีนอยด์ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไขมันที่ไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายในไขมันเช่นเดียวกับ capsaicin ดังนั้นการต้มจึงไม่ทำให้สีของพริกจางลง สำหรับผลพริกหรือดอกพริกที่มีสีม่วงนั้น เกิดจากสารพวกแอนโธไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งสารพวกนี้สามารถละลายน้ำได้



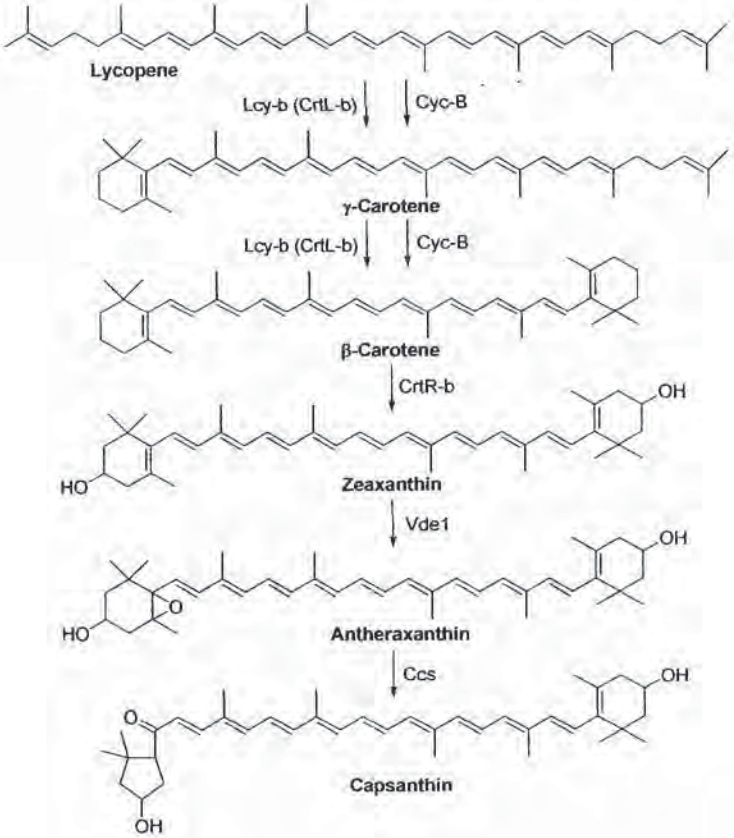
ภาพ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของสารสีหลักในพริก

ตาราง 2.2 ปริมาณสารสีหลักในพริก [30]

ชนิดของสารสี	ปริมาณสารสี (ไมโครกรัม ต่อกรัมน้ำหนักสด)
capsanthin	587.70
β-carotene	271.80
β-cryptoxanthin	217.00
สารสีรวม	1,755.90

การสังเคราะห์สารสีในพริก [31-32] เริ่มจาก lycopene ด้วยปฏิกิริยา cyclization ด้านปลายของสายโซ่ด้วยเอมไซม์ lycopene β -cyclase (LCY-B/CRTL-B) ได้ส่วนของ B-ionone ring ของสารอนุพันธ์ γ-carotene และ β-carotene ตามลำดับ จากนั้นเปลี่ยนจาก β-carotene เป็น zeaxanthin ด้วยปฏิกิริยา hydroxylation ของวงของ carotenes ที่

ตำแหน่ง 3C, 3C' ผ่านเอมไซม์ B-ring hydroxylase (CrtR-b) จากนั้นเอมไซม์ violaxanthin deepoxidase ทำการเปลี่ยน zeaxanthin เป็นอนุพันธ์ของ Antheraxanthin โดยการนำไปสู่การเกิดหมู่ 5,6-epoxy groups ในตำแหน่ง 3-hydroxy-β-rings ด้วยปฏิกิริยารีดอกซ์ ในขั้นตอนต่อไปเป็นการทำงานของเอมไซม์ capsanthin-capsorubin synthase (CCS) เกิดเป็นสาร capsanthin ซึ่งเป็นสาร xanthophylls ที่มีสีแดง ดังแสดงในภาพ 2.5

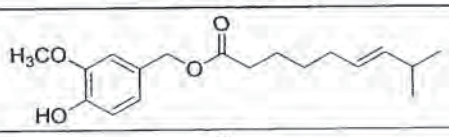
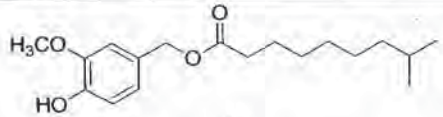
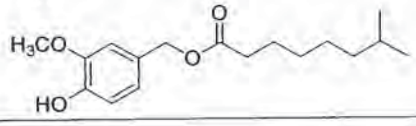


ภาพ 2.5 กระบวนการ Biosynthesis pathway ของ capsanthin

2.2.3 สารกลุ่ม capsinoids

Capsiate เป็นสารอนุพันธุ์ธรรมชาติของ capsaicin จัดเป็นสารในกลุ่ม capsinoids โดย Susumu Yazawa [33] เป็นผู้ค้นพบในปี ค.ศ. 1989 ในพริกสายพันธุ์ CH-19 sweet ซึ่งเป็นพริกที่ไม่ให้ความเผ็ด หรือโดยทั่วไปเรียกว่าพริกหวาน มีโครงสร้างทางเคมีใกล้เคียงกับแคปไซซินคือ ประกอบด้วยหมู่ไวนิลลิล แอลกอฮอล์ และกรดไขมันชนิดเดียวกับแคปไซซิน แต่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเอสเทอร์ ซึ่งทำให้สารชนิดนี้มีคุณสมบัติเผ็ดร้อนเพียง 1 ใน 1000 ส่วนของ capsaicin เท่านั้น จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า capsiate มีประโยชน์ทางด้านเภสัชวิทยาอย่างกว้างขวาง เช่น การเพิ่มอุณหภูมิและอัตราการเผาผลาญออกซิเจนในร่างกาย [34] ลดการสะสมไขมันในร่างกาย [35] ต่อต้านอนุมูลอิสระ [36] ลดการอักเสบของผิวที่เกิดจากรังสี UV-B [37] ลดการเจ็บปวด [38] และต่อต้านเซลล์มะเร็ง [39] โดยสารในกลุ่มนี้ประกอบด้วย capsiate, dihydrocapsiate และ nordihydrocapsiate (ตาราง 2.3)

ตาราง 2. 3 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม capsinoids

Capsinoids	Chemical structures
Capsiate	
Dihydrocapsiate	
Nordihydrocapsiate	

จากงานวิจัยของ Kouzou Sutoh [40] ในปี ค.ศ. 2006 ได้ทำการศึกษา biosynthesis ของ capsiate โดยการติดตาม radiolabelled ของ [^{3}H] valine และ [^{14}C] ใน phenylalanine ที่ฉีดลงในพริกสายพันธุ์ CH-19 Sweet และ Takanotsume ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความเผ็ด เนื่องจากปริมาณของ capsaicin สูง โดยพบว่าในส่วนของรกพริกมี conversion rate (%) ที่ได้จาก [^{14}C] phenylalanine อยู่ในรูปอนุพันธุ์ต่างๆของ [^{14}C] vanillin ได้แก่ vanillylamine, vanillyl alcohol, vanillic acid, capsiate, dihydrocapsiate, capsaicin, และ dihydrocapsaicin ดังแสดงในตาราง 2.4

ตาราง 2. 4 conversion rate (%) ของ [^{14}C] vanillin

Compound	CH-19 Sweet		Takanotsume	
	1	2	1	2
vanillin	0.73	2.02	1.01	2.15
vanillylamine	not detected	not detected	3.38	7.25
vanillyl alcohol	10.03	0.58	15.27	8.70
vanillic acid	4.73	2.33	2.66	5.64
capsiate	3.77	12.03	not detected	not detected
dihydrocapsiate	3.35	5.14	not detected	not detected
capsaicin	not detected	not detected	0.13	8.97
dihydrocapsaicin	not detected	not detected	0.08	4.96

* Duplicate data are shown as 1 and 2, separately.

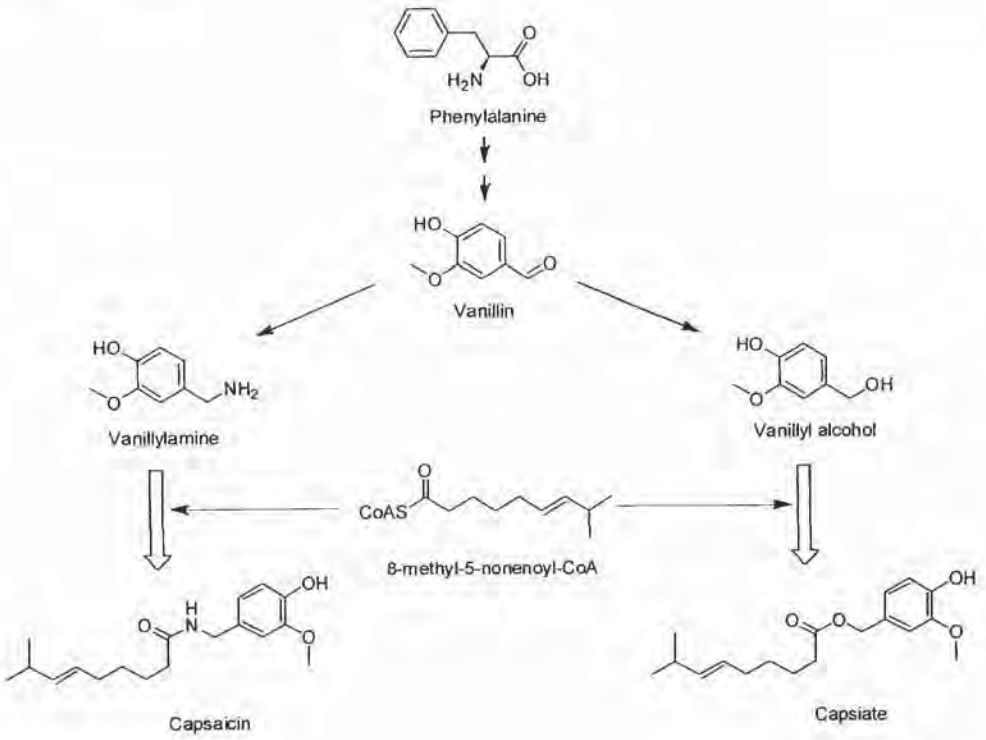
จากการทดลองสรุปได้ว่า phenylalnine เป็นกรดอะมิโนสำคัญในกระบวนการ biosynthesis pathway ในการสังเคราะห์ capsinoids และ capsaicinoids นอกจากนี้ ในปี ค.ศ. 2009 Yaqin Lang และคณะ [41] ได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมด้วยเทคนิค functional loss of outative-aminotransferase (p-AMT) gene เพื่อศึกษาการเกิด vanillylamine และ vanillyl alcohol ในพริกทั้งสองสายพันธุ์ และจากการศึกษาพบว่า ในพริกสายพันธุ์ CH-19 sweet พบปริมาณ

vanillyl alcohol และ capsiate สูงมาก ในขณะที่พริกสายพันธุ์ Takanotsume มี vanillyl alcohol และ capsiate ต่ำ แต่มีปริมาณ vanillylamine และ capsaicin สูง (ตาราง 2.5)

ตาราง 2. 5 ปริมาณ vanillylamine และ vanillyl alcohol (mg g^{-1} น้ำหนักแห้ง) ในพริกสายพันธุ์ CH-19 Sweet และ Takanotsume.

	Vanillylamine	Vanillyl alcohol	Capsaicinoids	Capsinoids
CH-19 Sweet	0.0078	0.0921	0.2000	1.3320
Takanotsume	0.0196	0.0442	4.6290	0.0970

ถัดมาในปี ค.ศ. 2010 กลุ่มวิจัยของ Yoshiuki Tanaka [42] ได้ทำการเสนอ biosynthesis ของ capsiate และ capsaicin ที่เป็นไปได้สูงจากการศึกษาด้วยเทคนิค (p-AMT) โดยสรุปได้ว่า phenylalanine เป็นกรดอะมิโนเริ่มต้นในการให้ vanillin ก่อนที่จะถูกเปลี่ยนเป็น vanillyl alcohol สำหรับการสังเคราะห์ capsiate และ vanillyl amine สำหรับการสังเคราะห์ capsaicin (ภาพ 2.6)

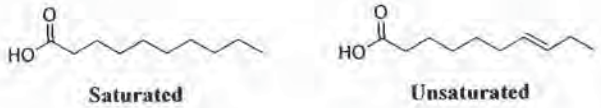


ภาพ 2. 6 Biosynthesis pathway ของ capsaicin และ capsiate

2.2.4 สารกลุ่มกรดไขมัน (fatty acid)

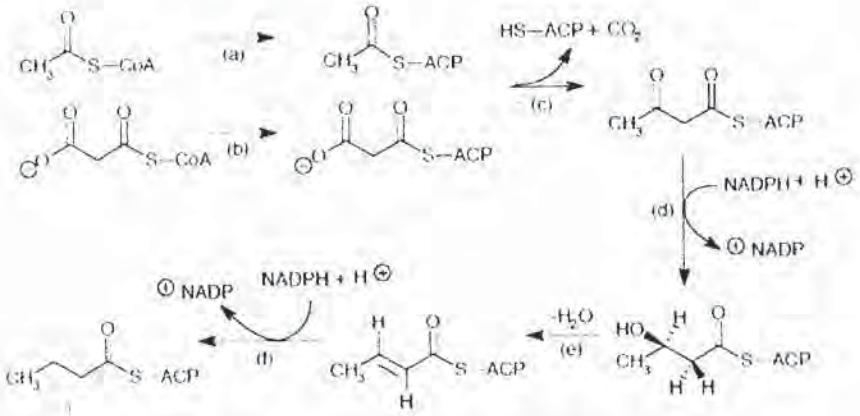
โดยส่วนมากกรดไขมันที่พบในพริก [43] นั้นจะประกอบไปด้วย Lauric acid, Myristic acid, Plamitic acid, Palmitoleic acid, Stearic acid, Oleic acid, Linoleic acid และ Linolenic acid ซึ่งกรดไขมันสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ 1. กรดไขมันอิ่มตัว ซึ่งจะมีการเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเดี่ยว และ 2. กรดไขมันไม่อิ่มตัว จะเป็นการเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเดี่ยวและพันธะคู่ (ภาพ 2.7) ซึ่งกรดไขมันที่เรารับประทานนั้นมีอยู่ด้วยกัน 3 แบบ ใหญ่ๆ ได้แก่

1. ไตรกลีเซอไรด์ 2. คอเลสเตอรอล 3. ฟอสโฟลิพิด โดยโครงสร้างของกรดไขมันนั้นจะเกิดจากการเรียงตัวเป็นสายโซ่ของคาร์บอน ซึ่งมีปลายข้างหนึ่งเป็นหมู่ methyl ($-CH_3$) และปลายอีกข้างหนึ่งเป็นหมู่ carboxyl (-COOH) ซึ่งจำนวนของคาร์บอนมีได้หลายตัว โดยทั่วไปจะอยู่ในช่วง 4 ถึง 22 อะตอม [44] หากมีความยาวน้อยกว่า 6 จะเรียกว่า กรดไขมันสายสั้น ถ้าอยู่ในช่วง 6-12 จะเรียกว่ากรดไขมันสายกลาง และหากมีความยาวมากกว่า 12 ก็จะเรียกว่า กรดไขมันสายยาว ซึ่งกรดไขมันเหล่านี้จะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเดี่ยวหรือพันธะคู่ และนอกจากนี้แล้วกรดไขมันสายสั้น และสายปานกลาง มีประโยชน์ต่อการบริโภคต่างๆ เนื่องจากมีค่าแครอลีต่ำกว่าไขมันและน้ำมันทั่วไป [45] และยังสามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น มีบทบาทในการต่อต้าน potential pathogenic หรือ opportunistic microorganisms สามารถยับยั้งการเจริญหรือฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยตรง [46] จากนั้นยังพบอีกว่าการผลิตไลปิดสังเคราะห์ที่มีขนาดสายกลางมีความสำคัญเนื่องจากเป็นแหล่งอาหารของผู้ป่วยที่มีความบกพร่องของตับอ่อนเพราะตับอ่อนหลั่งเอนไซม์ได้น้อยลง [47]



ภาพ 2. 7 ชนิดของกรดไขมันที่พบได้ทั่วไป

โดยในกระบวนการ biosynthesis แสดงในภาพ 2.8 ของกรดไขมัน [48] นั้นจะเริ่มจาก acetyl-CoA และ malonyl-CoA เป็นสารตั้งต้นโดยผ่านเอนไซม์ (a) acetyl CoA:ACP transacylae และ (b) malonyl CoA:ACP transacylae ซึ่งจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ acyl carrier protein (ACP) จากนั้นจะผ่านเอนไซม์ (c) 3-ketokacyl-ACP synthetase ซึ่งจะช่วยทำให้สามารถขยายสายโซ่ได้ด้วย malonyl-ACP เปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปของ acetyl-ACP ต่อจากนั้นจะเกิดปฏิกิริยา reduction ที่ตำแหน่งของกลุ่ม ketone ไปเป็นกลุ่ม hydroxyl ด้วยเอนไซม์ 3-ketoacyl-ACP reductase และกลุ่ม hydroxyl จะเกิดกระบวนการขจัดน้ำออก ผ่านเอนไซม์ 3-hydroxylacyl-ACP dehydrase จากนั้นจะเกิดปฏิกิริยา reduction ที่คาร์บอนตำแหน่ง 3 และ 4 ด้วยเอนไซม์ enoyl-ACP reductase และจากนั้นเกิดปฏิกิริยาดังขั้นตอนที่กล่าวมาซ้ำๆ ไปจนได้คาร์บอนตามจำนวนที่ต้องการของกระบวนการในการสังเคราะห์ของพืชแต่ละชนิด



ภาพ 2. 8 Biosynthesis pathway ของ Fatty acid

2.2.4 สารกลุ่มสารหอมระเหยอินทรีย์ (volatile organic compounds)

สารหอมระเหยในพริกเกิดจากสารกลุ่ม alcohols, aldehydes, fatty acids, esters, ketones, hydrocarbons, monoterpenes, sesquiterpenes และ pyrazines [49] โดยที่การแยกระบุสารแต่ละกลุ่มจากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่า สารประกอบกลุ่ม aldehydes, alcohol, esters, terpenes, ketones, bases, และ forans เป็นสารประกอบของสารหอมระเหยที่พบบ่อยที่สุดในพริก ดังแสดงในตาราง 2.6 โดยที่ปริมาณสารหอมระเหยจะขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์ของพริกและระดับความสุกของพริก โดยที่สารหอมระเหยในพริกเป็นสารอีกกลุ่มหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการบริโภคพริก โดยสารหอมระเหยในพริกจะส่งผลต่อการรับกลิ่นผ่านทางจมูก ที่เรียกว่า Orthonasal pathway เมื่อสารหอมระเหยผ่านกระบวนการดังกล่าว จะไปกระตุ้นสมองส่วนความต้องการอยากอาหาร จึงทำให้การบริโภคมีรสชาติดียิ่งขึ้น

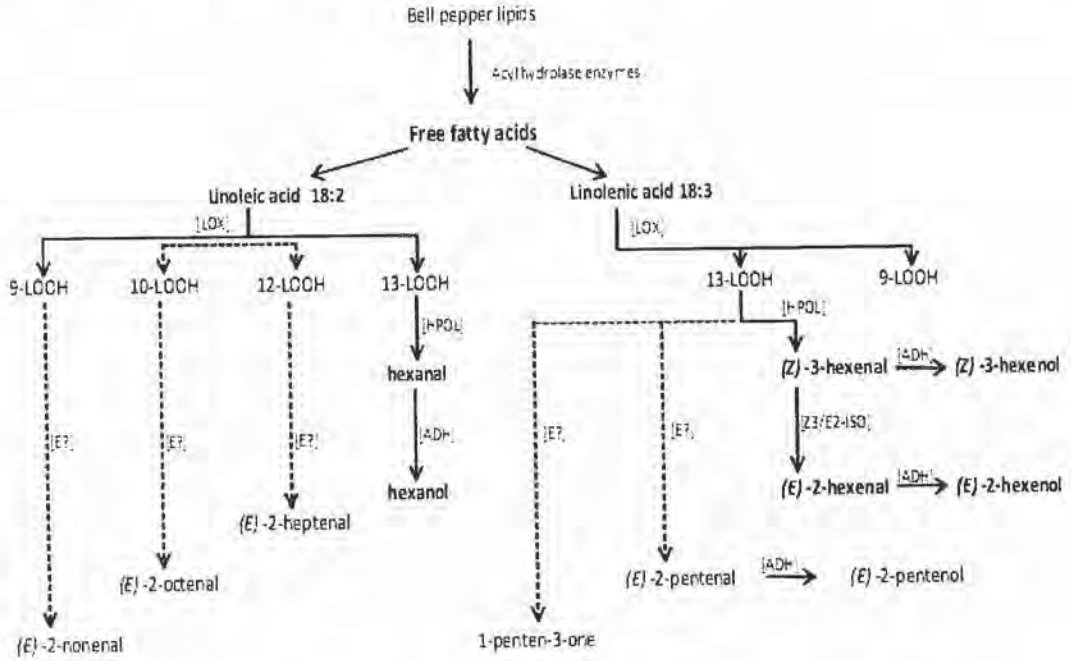
ตาราง 2. 6 สารหอมระเหยหลักที่พบในตัวอย่างพริก [50-58]

Chemical group	Compounds	Flavor descriptor
Aldehydes	(Z)-3-hexenal (E)-2-hexenal Hexanal	green, grassy, fresh aroma
	E, Z)-2,6-nonadienal	cucumber odor
	E,E)-2,4-decadienal	fried chicken odor
	E,Z)-2,4-decadienal	fried chicken odor
	benzaldehyde	almond note
Alcohols	(Z)-3-hexenol (E)-2-hexenol Hexanol	green, grassy, fresh aroma
Esters	Methyl salicylate	wintergreen-like odor
	hexyl isopentanoate	fruity notes, apple
	(Z)-3-hexenyl isopentanoate	fruity, sweet green, apple-like
	hexyl pentanoate	fruity odor notes
	ethyl acetate	sweet odor
Terpenes	(E)-β-ocimene	rancid, sweaty odor
	Limonene	citrus odor
	Linalool	floral
	3-carene	red bell pepper, rubbery odor
Ketones	1-penten-3-one	chemical/pungent, spicy odor
	2,3-butanedione	caramel odor

ตาราง 2. 7 สารหอมระเหยหลักที่พบในตัวอย่างพริก [50-58] (ต่อ)

Chemical group	Compounds	Flavor descriptor
	non-1-en-4-one non-(E)-2-en-4-one nona-(E,E)-2,5-dien-4-one 2-heptanone Hept-(E)-3-en-2-one	sweet mushroom-like odor, contribute to the cooked bell pepper aroma
	β-ionone	violet-like, fruity, woody
Bases	2-methoxy-3-isobutylpyrazine	green bell pepper odor
Furans	furfural	almond note
	2-pentylfuran	

กระบวนการ biosynthesis ของสารหอมระเหยจะเกิดผ่านกระบวนการ lipoxygenase pathway จากเอนไซม์ Lipoxygenases (LOX) โดยเอนไซม์จะไปช่วยเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ polyunsaturated fatty acid จะได้สาร fatty acid hydroperoxides (HPOs) [59] การทำงานของกระบวนการ lipoxygenase เกี่ยวข้องกับเอนไซม์หลายชนิด โดยเริ่มที่ LOX เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับ linoleic และ linolenic acid ให้อยู่ในรูปของ HPOs ซึ่งจะถูกตัดด้วยเอนไซม์ HPOL จะได้สารกลุ่ม aldehyde และ aldehyde อาจเกิด isomerized อยู่ในรูปอนุพันธ์ชนิดอื่นๆ ด้วย (Z)-3/(E)-2 isomerase (Z3/E2 ISO) และนอกจากนี้ยังเป็นอยู่ในรูปอนุพันธ์ของ alcohol ด้วยเอนไซม์ alcohol dehydrogenase (ADH) ดังแสดงในภาพ 2.9



ภาพ 2. 9 กระบวนการ biosynthesis ของสารหอมระเหยด้วยเอนไซม์ lipoxygenase ใน bell peppers. LOOH, hydroperoxide; [LOX], lipoxygenase; [HPOL], hydroperoxide lyase; [ADH], alcohol dehydrogenase; [Z3/E2-ISO], (Z)-3/(E)-2 isomerase; [E?], unknown enzyme. [60]

2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับปริมาณสาร capsaicinoids, Capsiate, Capsanthin, Beta-carotene, Fatty acid และ VOCs ในพริกสายพันธุ์ต่างๆ

2.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณของสารในกลุ่ม Capsaicinoids

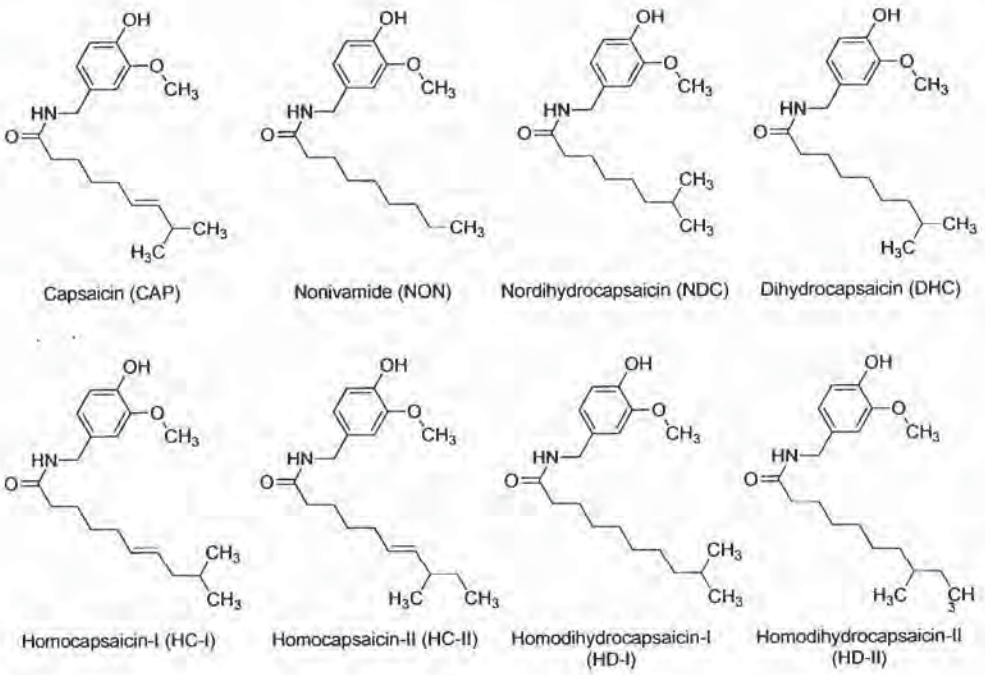
ในปี ค.ศ.2003 Jarret, R. L. และคณะ [61] ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นของสาร capsaicinoids ในสารสกัดพริกสด 4 กลุ่ม (species) รวมทั้งหมด 16 สายพันธุ์ (genotypes) ซึ่งมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 5.1 ถึง 4284 ppm โดยใช้ enzyme immunoassay (EIA) และในช่วง 0.6 ถึง 3467 ppm โดยใช้ HPLC ตามลำดับ ซึ่งจากผลการประมาณค่าสาร capsaicinoids ของทั้ง 2 เทคนิคมีความสัมพันธ์กันอย่างสูง (R^2 = 0.996) โดยพบว่าพริก sweet bell และ pimento type (*C. annuum* L.) มีความเข้มข้นของสาร capsaicinoids ต่ำสุด ส่วนพริก small-fruited 'bird'-type accession ของ *C. frutescens* L. (PI 593924) พบว่ามีความเข้มข้นของสาร capsaicinoids สูงที่สุด ดังตาราง 2.7

ตาราง 2. 8 *Capsicum* germplasm analyzed for capsaicinoids content by EIA and HPLC

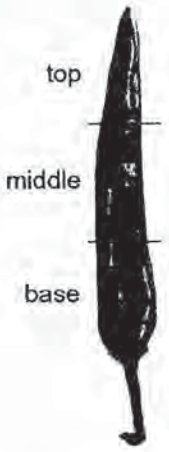
ID no.	Species	Country of origin	Status[a]	Name	Capsaicinoids (ppm)	
					EIA	HPLC
Grif 974	*C. Annuum*	China	Cultivated		5.1	1.1
Grif 1570	*C. Annuum*	Yemen	Cultivated		169	123
Grif 12453	*C. Annuum*	Albania	Cultivated	Kosova	34	17.1
Grif 14090	*C. Annuum*	Guatemala	Landrace		638	523
Grif 14094	*C. Annuum*	Guatemala	Landrace		495	356
Grif 14221	*C. Annuum*	Paraguay	Cultivated		13	3.1
Grif 14379	*C. Annuum*	India	Unknown		2699	2418
PI 298647	*C. Annuum*	Spain	Cultivated	Pimento bola	6.5	0.6
PI 370375	*C. Annuum*	Yugoslavia	Cultivated	Dolga blaga	14	10.3
Grif 14142	*C. Baccatum*	Paraguay	Landrace		774	760
PI 590506	*C. Baccatum*	Bolivia	Landrace		150	113
PI 596055	*C. Baccatum*	Bolivia	Landrace		167	115
PI 593926	*C. Chinense*	Ecuador	Landrace		819	703
Grif 14084	*C. Frutescens*	Guatemala	Landrace	Diente de perro	3581	3160
Grif 14088	*C. Frutescens*	Guatemala	Cultivated	Chile blanco	558	510
PI 593924	*C. Frutescens*	Ecuador	Landrace		4284	3467

[a] International Plant Genetic Resources Institute (1995). Descriptors for *Capsicum*. Rome, Italy.

ในปี ค.ศ.2005 Friedman, M. และคณะ [62] ได้ทำการวิเคราะห์หาสาร capsaicinoids ทั้ง 8 ชนิด คือ capsaicin, dihydrocapsaicin, homocapsaicin-I, homocapsaicin-II, homodihydrocapsaicin-I, nonivamide, homodihydrocapsaicin-II, และ nordihydrocapsaicin (ดังภาพ 2.10) ตามส่วนต่างๆ ของผลพริกคือ เนื้อพริก (pericarp) รกพริก (placenta), เมล็ดพริก (seed), ส่วนบน ส่วนกลางและส่วนล่างของผลพริก (ดังภาพ 2.11) ในพริก 17 กลุ่ม (species) และในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีพริกเป็นองค์ประกอบ 23 ชนิด โดยใช้ HPLC และ LC-MS ซึ่งจากผลการวิเคราะห์พบว่ามีปริมาณสาร capsaicinoids อยู่ในช่วงประมาณ 0.5 ถึง 3600 μg ของ capsaicin equiv/g of product ทั้งนี้ยังพบว่าพริกสด 12 ตัวอย่าง มีน้ำเป็นองค์ประกอบอยู่ในช่วง 80.8 ถึง 92.7%



ภาพ 2. 10 โครงสร้างทางเคมีของสาร capsaicinoids



ภาพ 2. 11 ภาพถ่ายแนวตั้งพื้นผิวด้านนอกของ Korean Hansui hot pepper ที่ถูกตัดแบ่งออกเป็น 3 ส่วน เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสาร capsaicinoids

ตาราง 2. 9 Capsaicinoids in parts of Seongrok (hottest) and Hansuwi (hot) red Korean peppers determined by HPLC[a]

pepper part	NDC[b]	IUP[c]	NON	CAP	DHC	HC-I	HC-II	HD-I	HD-II	total
Seongrok pepper										
placenta	94.4 ± 3.9	21.0 ± 0.5	55.9 ± 1.4	1258.6 ± 30.8	363.9 ± 8.9	19.9 ± 1.7[c]		trace	36.1 ± 2.6	1,849.8
seeds	10.8 ± 0.4	nd	30.4 ± 1.0	96.4 ± 3.4	32.3 ± 1.2	trace	trace	nd	9.9 ± 0.4	179.8
pericarp	4.6 ± 0.5	nd	33.0 ± 0.8	59.2 ± 1.5	28.0 ± 0.7	2.4 ± 0.0[d]		nd	10.8 ± 1.2	138.0
Hansuwi pepper										
lower	1.6 ± 0.2	nd	3.9 ± 0.4	0.5 ± 0.1	4.0 ± 0.6	0.7 ± 0.1[c]		nd	nd	10.7
top	0.7 ± 0.1	nd	1.5 ± 0.2	2.9 ±0.3	4.6 ± 0.9	trace	trace	nd	nd	9.7
middle	trace	nd	0.6 ± 0.0	0.7 ± 0.1	1.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1[c]		nd	nd	3.3

[a] Values in μg/g ± SD of fresh of wt; n = 3; nd = not detect. [b] Name of compounds show as abbreviation. [c] UIP (unidentified peak) expressed as equivalent. [d] Sum of HC-I and HC-II.

ตาราง 2. 10 Capsaicinoids content of red Korean peppers[a]

pepper variety	NDC[b]	IUP	NON	CAP	DHC	HC-I	HC-II	HD-I	HD-II	total
Seongrok	4.6 ± 0.5	nd	35.3 ± 0.1	59.2 ± 1.65	28.0 ± 0.7	2.4 ± 0.1[c]		nd	10.8 ± 1.2	140.3
Cheongryang	24.1 ± 0.3	nd	29.8 ± 1.0	54.1 ± 1.88	25.9 ± 0.6	nd	nd	nd	nd	135.9
Buja	5.3 ± 0.7	nd	15.9 ± 0.2	26.3 ± 0.4	25.1 ± 0.7	nd	nd	nd	nd	72.6
Gumsang	3.5 ± 0.3	nd	8.9 ± 1.5	18.1 ± 3.17	21.8 ± 1.9	nd	nd	nd	nd	52.3
Cheonhatongil	3.1 ± 0.1	nd	8.0 ± 0.2	15.4 ± 0.4	13.1 ± 0.5	nd	nd	nd	nd	39.6
Hansuwi	trace	nd	0.5 ± 0.0	0.8 ± 0.1	1.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1[c]		nd	nd	3.3
Gichan	nd	nd	0.4 ± 0.0	0.7 ± 0.1	0.6 ± 0.0	nd	nd	nd	nd	1.7
Teajangbu	nd	nd	0.5 ± 0.0	0.9 ± 0.0	nd	nd	nd	nd	nd	1.4

[a] Pericarps of middle parts of the fruits excluding placenta and seeds were used for analyses. Value in μg/g ± SD of fresh of wt; n = 3; nd = not detect. Capsaicinoids were not detected in the mild Jeongsang and Taewang peppers. [b] Name of compounds show as abbreviation. [c] Sum of HC-I and HC-II.

ตาราง 2. 11 Individual and total capsaicinoids contents of whole fresh and canned peppers sold in California determined by HPLC[a]

pepper	NDC	UIP	NON	CAP	DHC	HC-I	HC-II	DHC-I	HDC-II	total
habanero (86.6)	105.4 ± 12.6	11.4 ± 0.4	97.2 ± 3.5	1187.4 ± 42.2	771.9 ± 8.5	nd	44 ± 2.7	12.3 ± 0.6	31.3 ± 1.1	2,260.9
Thai (80.8)	187.6 ± 7.1	6.8 ± 0.2	32.6 ± 0.9	509.7 ± 12.7	501.4 ± 21.6	8.4 ± 0.8	34.8 ± 3.1	11.7 ± 1.3	39.7 ± 2.4	1,332.7
chipotle whole, canned[b]	34.6 ± 2.9	nd	nd	196.8 ± 23.5	163.5 ± 17.5	5.2 ± 2.0[c]		0.9 ± 0.3	14.4 ± 2.5	415.5
hot chili, canned (89.1)[c]	30.4 ± 5.1	3.6 ± 0.6	4.0 ± 0.7	179.9 ± 30.7	58.2 ± 11.3	1.7 ± 0.1	6.4 ± 0.5	2.7 ± 0.1	8.6 ± 0.5	305.5
jalapeno green whole pickled, canned[b]	24.4 ± 2.4	nd	nd	105 ± 14.7	72.0 ± 9.2	2.1 ± 0.3[c]		0.38 ± 0.1	5.5 ± 0.6	209.5
serrano green whole pickled, canned [b]	32.0 ± 0.4	nd	nd	61.7 ± 0.6	59.5 ± 1.8	2.8 ± 0.3[c]		0.6 ± 0.1	7.5 ± 0.3	164.1
jalapeños whole, canned[d]	11.0 ± 0.8	nd	nd	33.1 ± 0.7	38.7 ± 2.4	nd	nd	trace	1.8 ± 0.5	84.6
pepperoncini, canned (88.4)[f]	10.6 ± 0.1	nd	2.5 ± 0.1	30.3 ± 0.5	33.3 ± 0.3	1.7 ± 0.3	1.9 ± 0.2	nd	1.7 ± 0.1	82.0
serrano (88.8)	14.0 ± 1.5	nd	3.0 ± 0.1	16.2 ± 0.5	35.2 ± 0.8	nd	3.3 ± 0.7	2.2 ± 0.2	3 0.0± 0.2	76.9
green jalapeño (90.7)	11.2 ± 0.3	nd	2.0 ± 0.0	27.6 ± 0.2	29.6 ± 0.2	nd	2.3 ± 0.1	nd	3.1 ± 0.6	75.8
red jalapeño (86.9)	5.6 ± 0.9	nd	3.0 ± 0.2	22.4 ± 1.2	11.0 ± 0.3	nd	1.9 ± 0.2	nd	2.4 ± 0.5	46.3
sliced jalapeño, canned (92.5)[d]	6.0 ± 0.01	nd	0.5 ± 0.0	2.6 ± 0.1	8.2 ± 0.2	nd	0.5 ± 0.02	nd	0.9 ± 0.1	18.7

[a] Name of compounds show as abbreviation. Values in μg of CAP equivalents/g of fresh weight ± SD of fresh weight ± SD of fresh wt calculated by taking into account moisture content (values in parentheses if freeze-dry before analysis; other were not freeze-dry); n = 3; nd = not detected. Capsaicinoids were not detect in the following papers: green bell (92.7), red bell (90.8), yellow bell (90.5), and roasted red, canned (92.3)

[b] La Costena brand imported from Mexico by Vilore Foods, Vilore, TX. [c] Sum of HC-I and HC-II. [d] G. L. Mezzetta, Inc., Napa Valle, CA. [e] Imported from Mexico by Authentic Specialty Food, Chino, CA. [f] Import from Greece by Star Fine Foods, Fresno, CA.

ตาราง 2. 12 Individual and total capsaicinoids contents of commercial dry peppers and pepper-containing foods sold in California determined by HPLC[a]

pepper/food	NDC	UIP	NON	CAP	DHC	HC-I	HC-II	HDC-I	HDC-II	total
red pepper, ground cayenne[b]	302.2 ± 7.1	12.4 ± 0.2	190.2 ± 2.4	1,471.5 ± 18.8	1,422.0 ± 5.4	22.8 ± 0.1	43.8 ± 1.6	34.7 ± 0.1	88.2 ± 0.6	3587.8
red dry whole[c]	111.7 ± 7.9	49.3 ± 1.1	20.5 ± 0.5	1,328.8 ± 29.2	508.4 ± 10.9	10.0 ± 1.6[d]		4.1 ± 0.8	3.3 ± 0.8	2036.1
red pepper, ground cayenne[e]	138.4 ± 6.8	10.6 ± 0.1	41.5 ± 0.4	912.1 ± 8.4	690.6 ± 21.0	16.6 ± 2.5	23.5 ± 3.6	trace	77.5 ± 12.5	1910.8
yellow dry whole hot[e]	98.9 ± 3.6	23.8 ± 1.7	20.0 ± 1.4	1,059.2 ± 75.9	438.3 ± 20.4	nd	nd	nd	3.9 ± 0.2	1644.1
cayenne pepper, 100% organic[f]	76.6 ± 5.8	5.6 ± 0.1	53.0 ± 0.7	474.7 ± 5.5	302.5 ± 2.0	5.4 ± 0.6	10.7 ± 1.3	trace	35.4 ± 3.1	963.9
original chili seasoning[g]	124.3 ± 22.1	nd	173.0 ± 7.5	532.3 ± 23.2	nd	nd	nd	nd	nd	829.6
Tabasco Hot Habanero Sauce[g]	74.1 ± 9.5	nd	nd	329.9 ± 4.9	125.8 ± 0.8	16.5 ± 1.8[d]		nd	trace	546.5
Hungarian hot paprika[h]	48.2 ± 0.8	4.0 ± 0.6	17.2 ± 2.1	139.7 ± 16.9	217.8 ± 3.7	0.7 ± 0.1[d]		1.1 ± 0.0	10.6 ± 3.3	439.3
hot taco seasoning[i]	43.0 ± 0.1	nd	87.6 ± 3.3	186.8 ± 7.0	76.3 ± 2.5	nd	nd	nd	nd	393.7
Choula Hot Sauce (red and piquin peppers)[j]	34.2 ± 4.4	nd	trace	92.0 ± 3.8	59.9 ± 5.1	3.9 ± 1.2[d]		7.8 ± 0.4	3.06 ± 0.5	200.8
Tabasco Original Flavor Sauce[g]	9.0 ± 0.3	0.4 ± 0.01	5.8 ± 0.1	110.0 ± 0.5	66.6 ± 1.2	3.0 ± 0.6		nd	nd	194.7
mild taco seasoning[k]	38.1 ± 7.5	nd	74.1 ± 5.7	73.3 ± 5.6	nd	nd	nd	nd	nd	185.5
Crystal Hot Sauce (extra hot)[l]	nd	nd	trace	90.1 ± 4.0	72.3 ± 5.3	7.4 ± 0.9		trace	4.3 ± 0.5	174.1
Tabasco New Flavor Chipotle Sauce[g]	6.1 ± 0.6	nd	1.5 ± 0.2	28.2 ± 0.9	33.6 ± 1.0	2.3 ± 0.02		nd	nd	71.6
hot taco spices and seasoning[k]	nd	nd	2.4 ± 0.1	40.4 ± 1.7	22.5 ± 6.3	nd	nd	nd	nd	65.3
Safeway Hot Pepper Sauce[l]	nd	nd	2.9 ± 0.5	23.4 ± 0.1	14.4 ± 0.1	3.8 ± 0.6[d]		nd	nd	44.5
Ashanti Louisiana Hot Sauce[m]	2.1 ± 0.1	nd	nd	21.9 ± 0.1	4.7 ± 0.3	trace	tracs	nd	nd	28.7
kettle-cooked jalapeno extra crunchy potato chips[n]	4.1 ± 0.4	nd	nd	7.1 ± 2.5	9.3 ± 0.2	nd	nd	nd	nd	20.6
sun-dried tomato habanero tortillas[o]	trace	nd	1.4 ± 0.1	4.1 ± 0.1	2.4 ± 0.2	nd	nd	nd	nd	7.9
Miss Vickie's Jalapeño Potato Chips[o]	trace	nd	2.1 ± 0.1	2.6 ± 0.1	3.2 ± 0.3	nd	nd	nd	nd	7.9

[a] Name of compounds show as abbreviation. Values in μg of CAP equivalents/g of fresh weight ± SD, n = 3; nd = not detected; tr = trace. The following condiments contained no or trace amounts of capsaicinoids: chili powders (McCormick, Hunt Valley, MD. [c]Aji Panca Rojo Seco, Peru. [d] Sum of HC-I and HC-II. [e] Aji Ammarillo Mirasol Seco, Peru. [f] Morton & Bassett, San Francisco, CA. [g] McIlhenny Co., Avery Island, LA. [h] Product of Szeged, Hungary; Spiceco, Avenel, NJ. [i] Imported from Mexico by Tippcon, El Paso, TX. [j] Lawry Foods. [l] Safeway Co., CA. [m] Bridge Foods, New Orieans, LA. [n] Frito-Lay. [o] Trader Joe's.

ที่มา : Kozukue, N.; Han, J-S.; Kozukue, E.; Lee, S-J.; Kim, J-A.; Lee, K-R.; Levin, C. E. and Friedman, M. inventor; Analysis of eight capsaicinoids in peppers and pepper-containing foods by hight-performance liquid chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 9172-9181

ในปี ค.ศ.2007 Topuz, A. และคณะ [63] ได้นำผลพริกสุก (*Capsicum annuum* cultivas) 5 สายพันธุ์ คือ 730 F1, 1245 F1, Amazon F1, Serademre 8 และ Kusak 295F1 ที่มีแหล่งเพาะปลูกและปรับปรุงพันธุ์ในประเทศ ตุรกี มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณสาร capsaicinoids 5 ชนิด คือ capsaicin, dihydrocapsaicin, homocapsaicin, homodihydrocapsaicin, และ nordihydrocapsaicin (ในผลพริกที่มีการปลูกมาเป็นเวลานาน 2 ปี) โดยใช้เทคนิค HPLC ซึ่งจากผลการวิเคราะห์พบว่าผลพริกสายพันธุ์ 730 F1 และ 1245 F1 มีปริมาณสาร capsaicinoids เป็นองค์ประกอบที่สูง ดังตาราง 2.12

ตาราง 2. 13 Capsaicinoids composition of the ripe fruits of five *Capsicum annuum* cultivars (mg/kg dry matter)

Cultivar	C	DHC	HC	HDHC	NDHC	Total	SHU
730 F1	$307.7^{a} \pm 45.4$	$208.0^{a} \pm 74.7$	19.5 ± 4.5	$112.9^{c} \pm 1.0$	40.0 ± 18.0	$688.1^{a} \pm 132.6$	$9720^{a} \pm 2061.8$
1245 F1	$271.0^{a} \pm 45.6$	$123.4^{ab} \pm 7.8$	20.1 ± 4.8	$32.6^{c} \pm 7.1$	24.4 ± 4.3	$471.3^{ab} \pm 45.6$	$6980^{ab} \pm 806.7$
Amazon F1	$16.0^{c} \pm 2.5$	$0.1^{b} \pm 0.0$	17.0 ± 3.5	$65.8^{b} \pm 5.8$	10.2 ± 0.1	$109.1^{cd} \pm 12.0$	$1000^{cd} \pm 112.9$
Serademre 8	$149.2^{b} \pm 19.8$	$72.5^{b} \pm 13.64$	14.2 ± 0.9	$63.9^{b} \pm 8.9$	15.8 ± 5.8	$310.7^{bc} \pm 15.3$	$4300^{bc} \pm 158.6$
Kusak 295 F1	$11.0^{c} \pm 2.8$	$1.7^{b} \pm 1.6$	4.7 ± 1.5	$15.4^{c} \pm 5.4$	0.1 ± 0.0	$32.9^{d} \pm 11.3$	$362.5^{d} \pm 124.8$
Statistical significance	**	*	NS	**	NS	**	**

The values in a column followed by the different superscript letters are significantly ($P < 0.05$) different (Duncan's Multiple Range Test).

The values are mean ± standard error (n = 2), NS: non significant at $P < 0.05$, *: significant at $P < 0.05$, **: significant at $P < 0.01$.

C: capsaicin; DHC: dihydrocapsaicin; HC: homocapsaicin; HDHC: homodihydrocapsaicin; NDHC: nordihydrocapsaicin; SHU: Scoville Heat Unit.

ในปี ค.ศ.2007 Peraza-Sánchez, S. R. และคณะ [64] ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสาร capsaicin และสาร dihydrocapsaicin ซึ่งเป็นสารให้ความเผ็ดที่มีปริมาณรวมกันมากกว่า 90% โดยใช้เทคนิค gas chromatography ในส่วนต่างๆ ของผลพริก (pericarp, placenta และ seeds) ที่คัดเลือกมา 7 สายพันธุ์ คือ chawa, dulce, sukurre, xcat'ik (*Capsicum annuum* L. var. annuum), maax (*Capsicum annuum* L. var. aviculare), and habanero orange and habanero white (*Capsicum chinense* Jacq.) ซึ่งจากผลการวิเคราะห์พบว่า ผลพริกสายพันธุ์ที่มีปริมาณสาร capsaicin สูงสุด คือ habanero orange และ habanero white ตามด้วย sukurre, chawa, xcat'ik และ maax ส่วนผลพริกสายพันธุ์ที่มีปริมาณสาร dihydrocapsaicin สูงสุด คือ Sukurre ตามด้วย chawa, habanero white, habanero orange และ maxx โดยผลพริกสายพันธุ์ xcat'ik พบปริมาณสาร capsaicin เล็กน้อย ขณะที่ผลพริกสายพันธุ์ dulce แทบจะไม่พบปริมาณสาร alkaloids ทั้งสองชนิดนี้เลย

ตาราง 2. 14 Capsaicin content in the pericarp, placenta, and seeds of seven chili pepper cultivars grown in the state of Yucatan, Mexico[a,b]

Cultivar	μg/g of dried pericarp	μg/g of dried placenta	μg/g of dried seeds
Chawa (unripe)	220 (±16)	11,698 (±1208)	897 (±43)
Chawa (ripe)	222 (±34)	5689 (±475)	tr
Dulce	tr	tr	tr
Habanero orange	3914 (±292)	62,886 (±3497)	2280 (±139)
Habanero white	2592 (±85)	29,483 (±1854)	3195 (±170)
Maax (unripe)[c]		640 (±58)	
Maax (ripe)[c]		750 (±34)	
Sukurre (unripe)	tr	26,945 (±2499)	tr
Sukurre (ripe)	tr	18,995 (±438)	tr
Xkat'ik	tr	3189 (±43)	tr

[a] An ANOVA analysis was performed at a 95% confidence interval.

[b] Values in parentheses indicate standard deviation of the mean.

[c] Analyzed as entire fruit. tr = traces.

ตาราง 2. 15 Dihydrocapsaicin content in the pericarp, placenta, and seeds of seven chili pepper cultivars grown in the state of Yucatan, Mexico[a,b]

Cultivar	μg/g of dried pericarp	μg/g of dried placenta	μg/g of dried seeds
Chawa (unripe)	87 (±150)	2088 (±1394)	tr
Chawa (ripe)	652 (±106)	3214 (±253)	1689 (±157)
Dulce	tr	tr	tr
Habanero orange	663 (±69)	1607 (±79)	439 (±53)
Habanero white	602 (±14)	2349 (±272)	935 (±48)
Maax (unripe)[c]		370 (±40)	
Maax (ripe)[c]		tr	
Sukurre (unripe)	tr	3652 (±339)	tr
Sukurre (ripe)	tr	5043 (±211)	tr
Xkat'ik	tr	tr	tr

[a] An ANOVA analysis was performed at a 95% confidence interval.

[b] Values in parentheses indicate standard deviation of the mean.

[c] Analyzed as entire fruit. tr = traces.

ในปี ค.ศ.2009 Peña-Alvarez, A. และคณะ [65] ได้ทำการสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณสาร capsaicin และสาร dihydrocapsaicin ในผลพริก 11 สายพันธุ์ และในซอสพริก 4 ชนิด โดยใช้เทคนิค solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry ที่ได้ถูกพัฒนาขึ้น แต่ความแม่นยำของวิธีนี้ยังน้อยกว่า 10% ซึ่งจากผลการสกัดและวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้ในผลพริกพบว่ามีปริมาณสาร capsaicin อยู่ในช่วง 55.0 ถึง 25,459 μg/g และสาร dihydrocapsaicin อยู่ในช่วง 93 ถึง 1,130 μg/g ส่วนในตัวอย่างซอสพริกพบว่ามีปริมาณสาร capsaicin และ dihydrocapsaicin อยู่ในช่วง 4.3 ถึง 717.3 และ 1.0 ถึง 134.8 μg/g ตามลำดับ

ตาราง 2. 16 Capsaicinoids content (mg/g) of pepper and pepper sauces (n = 3) and recovery% by SPME-GC-MS.

Pepper variety	Sample (mg)	Capsaicin					Dihydrocapsaicin					Total capsaicinoids
		Soxhlet		SPME		Recovery%	Soxhlet		SPME		Recovery%	
		mg/g	CV%	mg/g	CV%		mg/g	CV%	mg/g	CV%		
Cascabel	50	0.1526	(2.5)	0.055	(8.7)	36.1	0.104	(1.0)	0.007	(2.5)	6.7[a]	0.062
Chipotle	15	0.372	(7.6)	0.327	(2.8)	87.9	0.283	(15.2)	0.093	(2.7)	32.8	0.420
Jalapeño	10	0.477	(5.6)	0.420	(1.2)	88.0	0.187	(6.6)	0.124	(8.3)	66.3	0.544
Guajillo Puya	15	0.782	(4.5)	0.512	(7.7)	65.4	0.551	(12.6)	0.109	(6.6)	19.7	0.622
Costeño	5	0.724	(18)	0.509	(11)	70.3	0.493	(19)	0.130	(10.6)	26.3	0.639
Canica	5	0.709	(6.9)	0.323	(3.5)	45.5	0.816	(8.5)	0.705	(7.1)	86.0	1.029
Árbol	5	1.86	(4.9)	1.316	(4.9)	70.7	0.749	(5.0)	0.299	(4.5)	39.9	1.616
Pico de Pájaro	5	4.30	(16.2)	2.304	(7.1)	53.5	1.27	(10.2)	0.547	(7.9)	43.0	2.851
Piquín	5	5.24	(7.5)	2.533	(4.5)	48.3	0.70	(1.2)	0.393	(4.3)	56.1	2.925
Chilpaya (Veracruz)	5	5.93	(4.5)	4.171	(8.8)	70.3	1.33	(4.2)	1.130	(11.3)	84.7	5.301
Habanero	3	-		25.46	(4.7)	-	-		4.574	(5.4)	-	30.03
Pepper sauces												
Salsa Roja Habanero	10	-		0.717	(12)	-	-		0.135	(7.8)	-	0.852
Salsa Mexicana	300	-		0.020	(8.8)	-	-		0.004	(7.3)	-	0.024
Salsa Valentina	200	-		0.018	(5.3)	-	-		0.003	(5.4)	-	0.021
Salsa Tajin	300	-		0.004	(17)	-	-		0.001	(16)	-	0.005

[a] Value below of the LOQ.

ในปี ค.ศ.2009 Tanaka, Y. และคณะ [66] ได้นำผลพริกที่ได้ทำการคัดเลือกมา 35 สายพันธุ์ โดยแบ่งออกเป็น *C. annuum* 18 สายพันธุ์ *C. baccatum* 7 สายพันธุ์ *C. chinense* 5 สายพันธุ์ *C. frutescens* 4 สายพันธุ์ และ *C. pubescens* 1 สายพันธุ์ มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณสาร capsiconinoid, capsinoid และสาร capsaicinoids โดยใช้เทคนิค HPLC (ตาราง 2.16)

ตาราง 2. 17 Capsicum cultivars used for this study and capsiconinoid, capsinoid, and capsaicinoid content in fruits[a]

species	cultivar	country to collect	μg/g DW fruit		
			capsiconinoid	capsinoid	capsaicinoid
C. annuum	Ecadorian Hot Pepper	Ecuador	239.2 ± 26.6	807.3 ± 69.0	7442.7 ± 372.3
	CH-19 Sweet	Japan	75.5 ± 1.5	5632.5 ± 280.0	109.7 ± 3.1
	Bolivian rainbow	Bolivia	79.0 ± 0.2	228.2 ± 4.8	4741.1 ± 64.6
	Corn Red	Japan	11.8 ± 7.5	145.2 ± 19.3	6993.1 ± 625.2
	Patagonia	Chile	nd.[b]	1021.6 ± 164.3	6141.1 ± 540.8
	Corn Yellow	Japan	nd.	397.6 ± 47.4	7503.2 ± 183.2
	Yatsufusa	Japan	nd.	145.4 ± 27.8	3706.8 ± 993.5
	No. 3446	Peru	nd.	135.1 ± 25.5	5568.8 ± 368.5
	Nikko	Japan	nd.	50.7 ± 35.6	1054.2 ± 443.9
	Chameleon	Japan	nd.	22.3 ± 11.2	3291.2 ± 267.2
	Ordono	U.S.A.	nd.	nd.	4649.4 ± 376.3
	Hangarian Yellow Wax	U.S.A.	nd.	nd.	1353.9 ± 65.5
	Escondida	Chile	nd.	nd.	927.0 ± 12.3
	Chimayo	U.S.A.	nd.	nd.	201.1 ± 112.3
	Nouni-kurojishi	Japan	nd.	nd.	880.2 ± 232.0
	Fushimi-ama	Japan	nd.	nd.	nd.
	Califolnia Wonder	Japan	nd.	nd.	nd
	Orange Bell	Japan	nd.	nd.	nd.
C. baccatum var. *praetermissum*	CCB	Mexico	3314.6 ± 357.4	45.7 ± 5.1	7885.3 ± 477.1
C. baccatum var. *baccatum*	Mexico1	Mexico	30.3 ± 1.6	264.8 ± 18.6	5250.2 ± 111.4
	No. 3188	Peru	nd.	506.4 ± 149.0	1950.1 ± 133.4
C. baccatum var. *pendulum*	Super	Côte d'Ivoire	106.7 ± 15.5	67.3 ± 1.0	5073.3 ± 93.5
	Peruvian orange	Peru	nd.	70.3 ± 6.9	905.6 ± 72.5
	Paraguay red	Paraguay	nd.	61.3 ± 12.8	1197.7 ± 47.3
	UFO	U.S.A.	nd.	nd.	511.0 ± 20.9
C. chinense	Charapita	Peru	2694.1 ± 91.9	1801.9 ± 23.8	5036.7 ± 200.6
	Sy-2	Seychelles	83.8 ± 7.9	1046.2 ± 112.1	7329.8 ± 325.4
	Peruvian Shiny Red	Peru	nd.	897.1 ± 136.5	9062.6 ± 618.3
	Habanero	Japan	nd.	nd.	7246.2 ± 30.5
	Guyana Tragedy	Guyana	nd.	nd.	2329.2 ± 224.0
C. frutescens	Costa Rica15	Costa Rica	39.3 ± 2.0	170.0 ± 12.3	7980.1 ± 413.4
	Shima	Japan	nd.	2056.6 ± 165.7	12148.4 ± 1000.0
	Tabasco	Japan	nd.	nd.	5012.9 ± 324.7
	Af-erect	Kenya	nd.	nd.	2451.0 ± 365.9
C. pubescens	Indonesia-1	Indonesia	nd.	nd.	3621.7 ± 541.1

[a] Mean ± standard error (n = 3). [b] nd.; not detect.

2.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณของสารในกลุ่ม Capsiate

ในปี ค.ศ. 2009 Singh และคณะ [67] ได้ทำการศึกษาหาปริมาณของ Capsinoids ด้วยเทคนิค HPLC-DAD ในพริกนานาพันธ์ รวมทั้งหมด 49 สายพันธุ์ใน 4 สปีชีส์ (C. annuum var. annuum, C. annuum var. glabriusculum, C. baccatum, C. chinense, และ C. frutescens) พบว่า ในพริกชนิดต่างๆ นั้นมีปริมาณของสาร E-capsiate อยู่ระหว่าง 11-369 μg/g โดยทำการตรวจวัดที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 280 nm และมีพริก 9 สายพันธ์เท่านั้นที่สามารถตรวจพบปริมาณของสาร dihydrocapsiate (18-86 μg/g) (ตาราง 2.17) ซึ่งสามารถยืนยันโครงสร้างทางเคมีของสารทั้งสองด้วยเทคนิค GC-MS

ตาราง 2. 18 ปริมาณของสาร capsiate และ Dihydrocapsiate ในพริก

Table 1. Concentrations of *E*-Capsiate and Dihydrocapsiate in Pepper Samples[a]

sample ID	genus/species	origin	*E*-capsiate (μg/g of FW)	SD	dihydrocapsiate (μg/g of FW)	SD
PB 26	*C. annuum* var. *annuum*	Nigeria	369.1	35.5	86.9[b]	
PE 56	*C. annuum* var. *annuum*	Venezuela	246.9	5.9	73.3	0.9
PE 84	*C. annuum* var. *glabriusculum*	Mexico	189.7[c]	33.3	nd[d]	
NP 30	*C. chinense*	USA	166.7	1.9	49.8	0.1
NP 42	*C. chinense*	Brazil	166.3	4.4	18.0	1.2
PE 86	*C. annuum* var. *glabriusculum*	Mexico	166.2	19.3	33.7	1.2
PE 31	*C. annuum* var. *glabriusculum*	Mexico	158.7	20.3	21.4[c]	
NP 37	*C. chinense*	Venezuela	137.5	5.2	34.8	1.2
GRIF 9302	*C. chinense*	Colombia	132.3	11.5[c]	nd	
PE 66	*C. frutescens*	Ecuador	122.6	19.5	35.5	0.9
PE 67	*C. chinense*	Ecuador	116.4	17.9	nd	
NP 28	*C. chinense*	Costa Rica	110.3	6.1	nd	
PB 35	*C. annuum* var. *annuum*	Malaysia	109.6	14.3	45.5	0.8
PB 31	*C. annuum* var. *annuum*	unknown	105.7	20.1	nd	
PE 12	*C. annuum* var. *annuum*	Guatemala	83.8	15.4	nd	
PE 50	*C. annuum* var. *annuum*	India	81.4	27.6	nd	
PE 75	*C. annuum* var. *glabriusculum*	Mexico	80.0	2.5	nd	
PI 438644	*C. chinense*	Mexico	79.9	3.1	nd	
PB 22	*C. annuum* var. *annuum*	Thailand	75.7	16.9	nd	
PE 16	*C. annuum* var. *annuum*	Colombia	71.5	3.6	nd	
PE 23	*C. annuum* var. *annuum*	USA	64.7	2.5	nd	
PE 59	*C. annuum* var. *annuum*	Honduras	60.0	4.3	nd	
PE 80	*C. annuum* var. *glabriusculum*	Mexico	57.8	9.1	nd	
NP 13	*C. annuum* var. *annuum*	Korea	55.4	12.5	nd	
PE 82	*C. annuum* var. *glabriusculum*	Mexico	53.1	3.2[c]	nd	
PE 33	*C. annuum* var. *annuum*	India	46.0	9.4	nd	
PB 38	*C. annuum* var. *annuum*	USA	45.8	5.5	nd	
P 21	*C. annuum* var. *annuum*	Mexico	43.3[b]		nd	
NP 47	*C. frutescens*	Bolivia	40.6	20.5	nd	
PI 224424	*C. chinense*	Costa Rica	40.4	20.1	nd	
NP 1	*C. annuum* var. *annuum*	Mexico	38.3	2.8	nd	
PE 37	*C. annuum* var. *annuum*	Yugoslavia	35.5	3.4	nd	
PI 438535	*C. chinense*	Belize	32.4	1.7	nd	
NP 32	*C. chinense*	USA	31.5	1.8	nd	
PB 93	*C. frutescens*	Thailand	30.7[b]		nd	
PB 18	*C. annuum* var. *annuum*	France	29.9	9.3	nd	
NP 4	*C. annuum* var. *annuum*	Cuba	22.2	10.9[c]	nd	
PE 06	*C. annuum* var. *annuum*	Afghanistan	20.8	2.9	nd	
PE 05	*C. annuum* var. *annuum*	Afghanistan	20.6	1.9[c]	nd	
NP 23	*C. baccatum*	Peru	19.5	2.9	nd	
PE 79	*C. annuum* var. *glabriusculum*	Nicaragua	19.0	7.4[c]	nd	
NP 5	*C. annuum* var. *annuum*	USA	17.8	3.1	nd	
PE 85	*C. annuum* var. *glabriusculum*	Mexico	17.7	3.9[c]	nd	
PE 54	*C. annuum* var. *annuum*	China	16.7	2.9	nd	
PI 439476	*C. chinense*	Puerto Rico	14.7	0.9	nd	
PB 25	*C. annuum* var. *annuum*	Bolivia	13.5	0.4	nd	
NP 35	*C. chinense*	Peru	12.9	2.0	nd	
PE 61	*C. annuum* var. *annuum*	USA	11.7	4.6	nd	
PE 7	*C. annuum* var. *annuum*	Afghanistan	11.5	5.4[c]	nd	

[a]Peppers were in the mature stage of growth when analyzed. [b]Only a single analysis was conducted. [c]Only duplicate analysis was done. [d]Not determined.

2.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณของสารในกลุ่ม Carotenoids

ในปี ค.ศ. 2005 Ofelia Collera-Zuniga และคณะ [68] ได้ทำการแยกและระบุเอกลักษณ์ของสารสีกลุ่ม carotenoids ด้วย normal phase และ reverse phase HPLC จากพันธุ์พริกที่ขายตามท้องตลาดประเทศแมกซิโก 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ Ancho, Guajillo และ Mulato โดยที่พบปริมาณสาร carotenoids แสดงในตาราง 2.18 โดยพบปริมาณ beta-carotene มากที่สุด คือ 20.9%, 17.9%, และ 14.9% ตามลำดับ พบปริมาณของ capsanthin ในพันธุ์ Ancho 9.6%, Guajiio 12.6% และ Mulato 11.2%

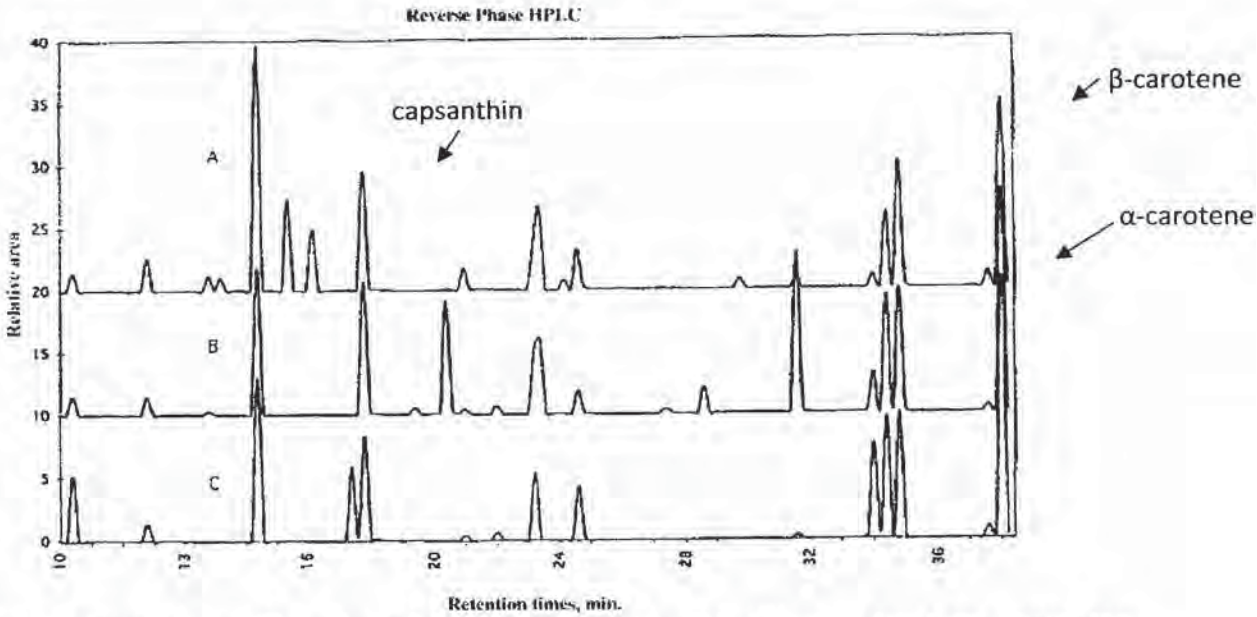
ตาราง 2. 19 carotenoid composition in three varieties of *C. annuum* in reverse phase HPLC (% of total carotenoids)

Pigment (Order of elution)	Ancho	Guajillo	Mulato
1.Latoxanthin	5.55	1.56	1.53
2.Capsorubin[a]	2.17	0.35	4.20
3.Neoxanthin[a]	-	0.28	2.20
4.Capsanthin 5,6-epoxide	-	-	1.43
5.Violaxanthin	14.5	13.2	22.0
6.Capsanthin3,6-epoxide	-	-	11.6
7.Luteoxanthin	-	-	2.10
8.Cucurbitaxanthin B	10.5	-	-
9.Capsanthin[b;a]	9.69	12.6	11.2
10.Cycloviolanxanthin	-	0.51	-
11.Anteraxanthin[a]	Traces	7.07	Trace
12.Mutatoxanthin	0.30	0.31	1.23
13.Mutatoxanthin	0.33	0.30	-
14.9-cis-Capsanthin	10.1	10.0	9.93
15.Lutein[a]	-	-	0.88
16.Zeaxanthin[b]	4.29	1.88	3.56
17.9-cis-Zeaxanthin	-	0.50	-
18.15-cis-Zeaxanthin	-	4.79	-
19.Canthaxanthin	-	-	0.78
20.Cryptocapsin	0.24	10.0	0.62
21. α-Criptoxanthin	5.28	2.24	0.72
22. β-Criptoxanthin[b]	9.70	9.53	6.10
23. β -Apo-80-carotenal[a;b]	Ref.	Ref.	Ref.
24. α -Carotene[b]	2.1	1.27	2.98
25. β -Carotene[a;b]	20.9	17.9	14.9
Non-identified compounds	4.39	5.74	2.00
Weight (%)	100%	100%	100%
Total carotenoids (mg/100 g dw)	7.52	6.76	7.24

Most carotenoids were assigned only by their retention times in HPLC and UV-Vis spectra.

[a] Compounds isolated and identified by UV, visible, infrared and mp.

[b] Compared with reference standards.



ภาพ 2. 12 Reverse phase HPLC. The relative areas of carotenoids (retention time) are shown for: latoxanthin (9.7), capsorubin (11.4), neoxanthin (13.1), capsanthin 5,6-epoxide (13.25), violaxanthin (14.4), capsanthin 3,6-epoxide (15.3), luteoxanthin (16.1), curcurbitaxanthin B (17.3), capsanthin (17.8), cicloviolaxanthin (19.3), antheraxanthin (19.3), mutatoxanthin (20.9), mutatoxanthin (21.9), 9-cis-capsanthin (23.0), lutein (24.0), zeaxanthin (24.3), 9-cis-zeaxanthin (27.2), 15-cis-zeaxanthin (28.4), canthaxanthin (29.6), cryptocapsin (31.5), a-cryptoxanthin (33.9), b-crytopxanthin (34.4), b-apo-80-carotenal (34.9), a-carotene (40.4), b-carotene (40.8) A: Mulato, B: Guajillo, C: Ancho.

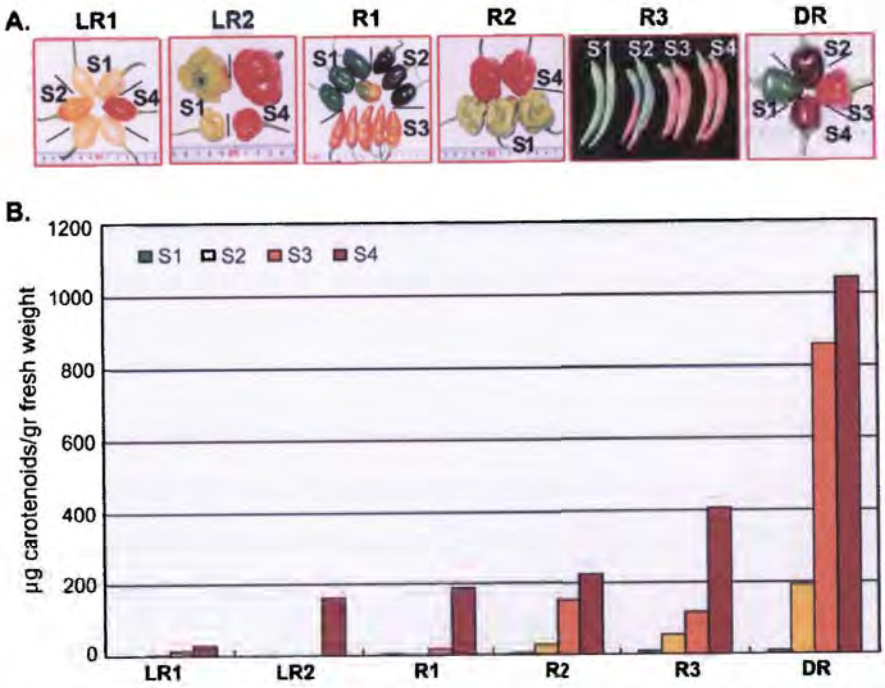
ในปี ค.ศ. 2007 Ayhan Topuz และ Feramuz Ozdemir [69] ได้วิเคราะห์หาปริมาณ carotenoids ในพริก 5 ชนิด ประกอบด้วย 730 F1, 1245 F1, Amazon F1, Serademre 8 และ Kusak 295 F1 ที่ปลูกในประเทศตุรกี ด้วยเทคนิค HPLC จากการทดลอง พบว่า ตรวจพบสาร carotenoids ทั้งหมด 7 ชนิด โดยมีปริมาณของ capsanthin มากกว่า 50% ของสาร carotenoids ทั้งหมดที่ตรวจพบ แสดงในตาราง 2 โดยพริกพันธุ์ 730 F1 และ 1245 F1 มีปริมาณ capsanthin สูงสุดเท่ากับ 1270 ± 89.4 และ 1270 ± 217.8 mg/kg ของน้ำหนักแห้ง และพบปริมาณ beta-carotene สูงในพันธุ์ 730 F1 และ 1245 F1 เท่ากับ 120.3 ± 11 และ 124.5 ± 6.2 mg/kg ของน้ำหนักแห้ง

ตาราง 2. 20 Carotenoids composition of the ripe fruits of five *Capsicum annuum* cultivars (mg/kg dry matter)

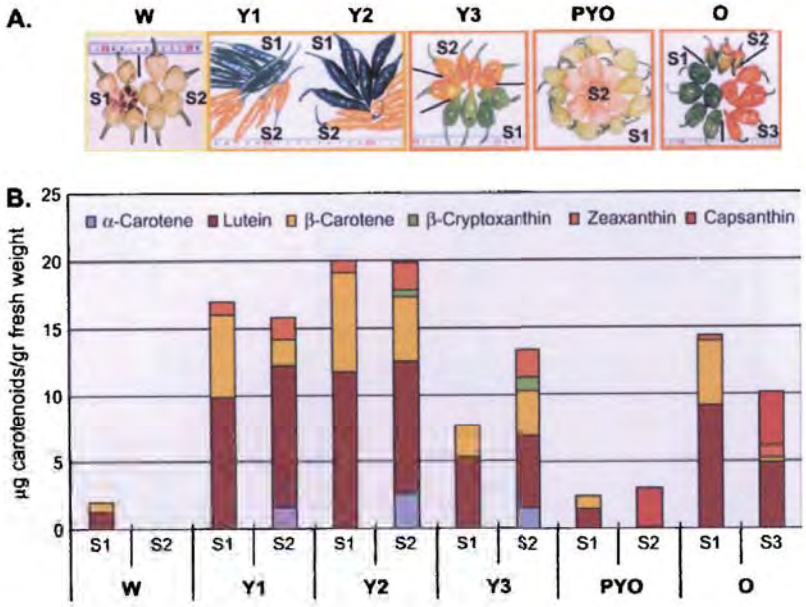
Cultivar	Capsanthin	Capsolutein	Capsorubin	Violaxanthin	Zeaxanthin	β-Carotene	β-Cryptoxanthin
730 F1	1270±89.4	267.4±5.6	67.2±3.7	101.1±8.8	409.9±55.0	120.3^{a}±11.0	154.3±10.9
1245 F1	1270±217.8	278.2±60.9	58.6±16.0	89.3±19.3	327.1±108.1	124.5^{a}±6.2	165.5±12.3
Amazon F1	850.0±109.5	171.2±56.4	25.9±10.8	59.3±8.1	462.4±55.6	83.9^{b}±15.3	163.0±24.6
Serademre 8	891.5±95.2	222.3±36.3	40.0±3.5	64.3±8.5	280.0±0.7	69.5^{b}±8.4	115.0±0.6
Kusak 295 F1	769.0±71.3	181.4±22.9	40.2±4.1	50.3±9.6	212.8±38.4	72.9^{b}±5.1	113.5±11.0
Statistical significance	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS

The values are mean±standard error ($n = 2$). NS: nonsignificant. *: significant at $P<0.05$.
The values in a column followed by the different superscript letters are significantly ($P<0.05$) different (Duncan's Multiple Range Test).

ในปี ค.ศ. 2007 Sun-Hwa Ha และคณะ [70] ได้ศึกษาการสะสมปริมาณของสาร carotenoids ในพริก ที่แสดงการสุกที่สีต่างๆ ของแต่ละสายพันธุ์ที่มีสี deep red (DR), red (R), light-red (LR), orange (O), pale-yellow orange (PYO), yellow (Y), และ white (W) ด้วยเทคนิค HPLC โดยพบว่าพริกจะมีการสะสมปริมาณ carotenoids ในระยะการสุกที่แตกต่างกัน โดยพริกที่มีสีแดง (DR) จะมีการสะสมปริมาณ carotenoids สูงกว่าพริกที่ไม่มีสีแดง (LR) ซึ่งมีการสะสมในปริมาณต่ำ แสดงในภาพ 2.13 และจากการศึกษาแสดงในภาพ 2.14 พบว่า พริกสี O และ PYO มีการสะสม carotenoids ต่ำกว่า พริก Y1-Y3 และไม่พบในพริกที่มีสีขาว โดยการสะสมปริมาณ capsanthin จะมีการลดลงในพริกที่ไม่มีสีแดง จาก DR, R, LR, O และ PYO ตามลำดับ โดยที่พบว่า capsanthin (80%) เป็นส่วนประกอบหลักของ carotenoids และพบปริมาณ beta-carotenoids อยู่ในช่วง 1.5-16% ในพริกสีแดง

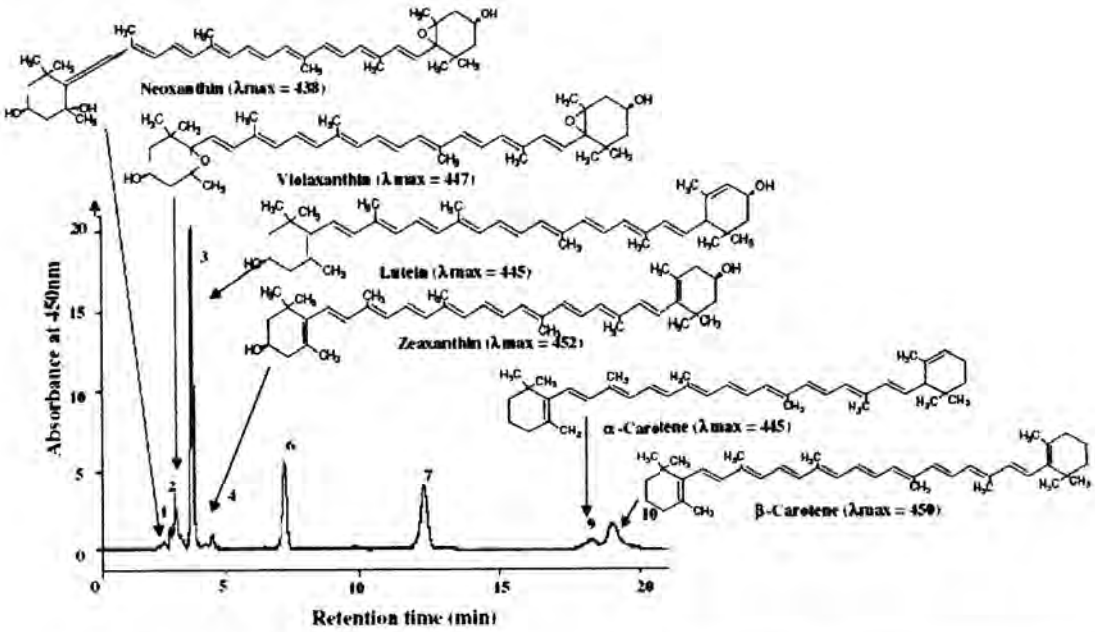


ภาพ 2. 13 (A) Photographs showing the colours of different varieties of red pepper fruits at different stages of ripening. (B) Measurements of the total carotenoid contents in red Capsicum varieties during ripening. Fruits at each stage of ripening (S1–4) were used for the extraction of carotenoids and total RNA. Fruits at ripening stage S3 of the LR1 pepper, S4 of the R1 pepper, and S2 and S3 of both the LR2 and R2 peppers are not shown here.



ภาพ 2. 14 (A) Photographs showing the colours of different varieties of non-red pepper fruits at different stages of ripening. (B) Measurements of the total carotenoid contents in non-red Capsicum varieties during ripening. Fruits at each stage of ripening (S1–4) were again used for the extraction of carotenoids and total RNA.

ปี ค.ศ. 2010 Aruna และ Baskaran [71] ได้วิเคราะห์หาปริมาณ carotenoids ในเครื่องเทศของอินเดียด้วยเทคนิค HPLC โดยใช้คอลัมน์ชนิด C18 และใช้ acetonitrile/methanol/dichloromethane (60:20:20, v/v/v) เป็น mobile phase พบว่าพริกเขียวมีปริมาณ α-carotene และ β-carotene มีปริมาณ 0.45 และ 9.06 mg/100 g ต่อน้ำหนักแห้ง และแสดงโครมาโทแกรมของสารตัวอย่างดังภาพ 2.15



ภาพ 2. 15 HPLC elution profile of carotenoids in green chilli, their chemical structures and kmax. Peaks: 1, neoxanthin; 2, violaxanthin; 3, lutein; 4, zeaxanthin; 6, chlorophyll b; 7, chlorophyll a; 9, a-carotene; 10, b-carotene. Refer Section 2 for HPLC conditions.

ปี ค.ศ. 2011 Mary A. O'Connell และคณะ [72] ได้ทำการศึกษาหาปริมาณ β-carotene ในพริกสีส้ม 8 ชนิด ได้แก่ (A) NuMex Sunset; (B) Valencia; (C) Orange Grande; (D) Oriole; (E) NuMex Garnet; (F) Dove; (G) Canary; (H) Fogo แสดงดังภาพ 2.16

ภาพ 2. 16 ตัวอย่างพริกสีส้ม 8 ชนิดที่ใช้ในการวิเคราะห์ carotenoid

ทำการสกัดพริดโดยใช้ตัวทำละลาย Hexane ทำการระเหยแห้งตัวทำละลายภายใต้สภาวะแก๊ซไนโตรเจน นำมาละลายซ้ำด้วย ไอโซโพรพานอล 500 uL จากนั้นทำการสาปอนนิไฟล์ด้วย 100 uL methanolic KOH เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ทำการสกัดด้วยน้ำ 500 uL และ คลอโรฟอร์ม 300 uL นำชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ทำการเซนติฟิวจ์

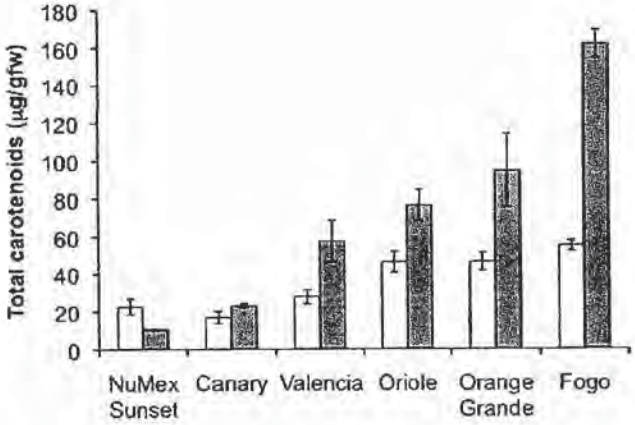
จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณโดยใช้เครื่อง Waters HPLC และ 4.6 x 250 mm YMC carotenoid column ใช้ระบบ linear gradient methanol:methyl-t-butyl ether:water:: 81:15:4 (solvent A) และ methyl-t-butyl ether:methanol:water::88:8:4 (solvent B) flow rate 2 ml/min พบว่ามี carotenoid สะสมในพริกสีส้มทั้ง 8 ชนิดในระดับ ug g^{-1} แสดงดังตาราง พบว่า B-carotene, B-cryptoxanthin, capsanthin และ unidentified carotenoids พบมากที่สุดในพริกชนิด NuMex Sunset สำหรับ Lutein และ Violaxanthin พบมากที่สุดในพริก Fogo สาร Zeaxanthin พบมากที่สุดใน Orange Grande

ตาราง 2. 21 แสดงปริมาณ carotenoid ที่พบในพริกทั้ง 8 ชนิด

		β-carotene	β-cryptoxanthin	Lutein	Zeaxanthin	Violaxanthin	Capsanthin	Unidentified carotenoids[a]
Canary	Turning	1.94±0.20	nd	nd	3.43±0.48	11.48±1.13	nd	14.75±2.99
	Mature	nd	nd	3.77±0.19	1.20±0.12	11.83±1.02	nd	6.50 ±0.55
Fogo	Turning	4.74±0.72	1.11±0.17	10.50±0.52	5.68±0.68	11.79±1.08	nd	21.04±2.34
	Mature	9.34±1.25	4.64±0.44	18.73±0.77	18.90±1.25	43.34±3.78	nd	66.59±5.99
Orange Grande	Turning	2.04±0.55	1.29±0.35	10.66±1.58	20.90±3.53	1.85±0.21	nd	9.83±3.01
	Mature	6.75 ±3.11	2.16±1.77	14.41±4.65	44.44±16.50	2.16±0.34	nd	24.77±8.36
Oriole	Turning	2.03±0.61	1.12±0.07	9.25±1.72	19.78±3.79	2.14±0.39	nd	11.88±3.55
	Mature	4.94±1.47	2.67±0.66	10.18±1.87	39.14±6.98	1.64±0.22	nd	17.89±3.13
Valencia	Turning	2.78±1.07	nd	nd	3.73±0.23	5.11±0.93	nd	16.17±3.36
	Mature	5.48±0.27	1.11±0.08	nd	8.09±2.05	11.20±3.03	13.68±8.81	18.00±5.57
NuMex Sunset	Turning	nd	nd	nd	nd	3.63±2.63	10.42±0.52	8.63±3.32
	Mature	nd	nd	nd	nd	nd	8.18±0.51	2.42±0.09
Dove	Mature	nd	nd	nd	nd	0.69±0.12	18.84±1.31	8.76±2.36
NuMex Garnet	Mature	36.00±6.00	19.02±3.44	nd	24.08±2.48	6.43±1.11	116.25±15.41	117.02±16.90

[a] HPLC peaks were detected by absorbance at 450 nm, but not eluting with retentions times of any reference standards; concentrations calculated based on β-carotene calibration curves.

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของ total carotenoids ในพริกทั้ง 6 ชนิดพบว่า total carotenoids พบมากที่สุดในพริกชนิด Fogo



ภาพ 2. 17 กราฟเปรียบเทียบปริมาณ total carotenoids ในพริกแต่ละชนิด

2.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณของสารในกลุ่ม Fatty acid

ปี ค.ศ. 1999 Antonio Pérez-Gálvez และคณะ [73] ได้ทำการศึกษาส่วนประกอบของกรดไขมันในส่วนเปลือกและเมล็ดของพริกสองชนิด (*Capsicum annuum L. cv.* Jaranda and Jariza) รวมทั้งศึกษาถึงอิทธิพลของผลสดกับผลแห้งต่อปริมาณกรดไขมัน จากการวิเคราะห์พบว่าในส่วนของเปลือกจะพบปริมาณของ polyunsaturated fatty acids (PUFA), linoleic และ linolenic เป็นส่วนประกอบหลัก แสดงในตาราง 1 และจะพบในสัดส่วนที่เท่ากันกับในส่วนของเมล็ด โดยในเมล็ดจะพบ linoleic ปริมาณสูงกว่าในส่วนเปลือก และในส่วนเปลือกซึ่งเป็นส่วนที่สะสม carotenoids จะพบ linolenic ในปริมาณมาก เนื่องจากกรด linoleic ไม่ถูกใช้ในกระบวนการ carotenoids esterification จากการศึกษาสภาวะระหว่างผลสดกับผลแห้ง พบว่า กรดไขมันในเมล็ดจะไม่เปลี่ยนแปลงในขั้นตอนในการทำให้แห้ง ในขณะที่การสะสมกรดไขมันในส่วนเปลือกจะเพิ่มขึ้น

ตาราง 2. 22 Percentage composition (mean ±SD) in fatty Acids of the pericarp and Seeds during the processing stages for paprika (*Capsicum annuum L.*) Jaranda and Jariza Varieties

	Fresh fruit (n = 24)		Dehydrated fruit (n = 12)		Paprika (n = 8)
Fatty acid	Pericarp	Seed	Pericarp	Seed	
		Jaranda variety			
Lauric	2.42 ± 0.82	0.05 ± 0.03	3.22 ± 0.81	0.04 ± 0.08	0.78 ± 0.20
Myristic	7.16 ± 1.98	0.12 ± 0.02	8.66 ± 1.86	0.20 ± 0.05	1.88 ± 0.19
Palmitic	18.22 ± 0.84	11.08 ± 0.45	18.35 ± 1.49	10.76 ± 0.12	11.92 ± 0.20
Palmitoleic	0.81 ± 0.26	0.21 ± 0.03	0.85 ± 0.19	0.20 ± 0.01	0.40 ± 0.02
Stearic	4.73 ± 0.39	2.85 ± 0.08	4.18 ± 1.14	2.78 ± 0.10	2.75 ± 0.09
Oleic	8.48 ± 0.39	7.38 ± 0.29	11.28 ± 1.96	7.11 ± 0.50	8.48 ± 0.57
Linoleic	27.15 ± 2.78	77.98 ± 0.57	28.11 ± 6.99	79.45 ± 1.77	69.24 ± 1.09
Linolenic	29.93 ± 3.22	0.38 ± 0.02	23.38 ± 1.84	0.56 ± 0.09	4.12 ± 0.76
		Jariza variety			
Lauric	3.17 ± 0.95	0.03 ± 0.02	3.58 ± 0.63	0.03 ± 0.01	0.65 ± 0.11
Myristic	8.27 ± 2.64	0.14 ± 0.01	10.18 ± 2.61	0.17 ± 0.02	1.98 ± 0.17
Palmitic	18.72 ± 1.01	11.24 ± 0.46	18.98 ± 1.63	11.16 ± 0.46	12.45 ± 0.25
Palmitoleic	0.77 ± 0.08	0.21 ± 0.03	0.93 ± 0.14	0.19 ± 0.01	0.41 ± 0.05
Stearic	4.90 ± 0.66	2.71 ± 0.14	3.71 ± 0.23	2.78 ± 0.20	2.84 ± 0.06
Oleic	7.19 ± 0.98	7.32 ± 0.33	10.54 ± 2.19	7.09 ± 0.31	8.36 ± 0.45
Linoleic	25.18 ± 5.14	77.96 ± 0.67	28.77 ± 5.61	78.09 ± 0.66	68.46 ± 1.43
Linolenic	30.27 ± 4.40	0.38 ± 0.02	20.90 ± 2.65	0.49 ± 0.04	4.10 ± 0.72

ใน ค.ศ. 2006 BELLUR CHAYAPATHY NARASIMHA PRASAD และคณะ [24] ได้ศึกษาวิจัยอิทธิพลของ 8-Methyl-nonenoic Acid ในกระบวณการ Biosynthesis ของ capsaicin ใน In-Vivo และ In-Vitro Cell Cultures ของ Capsicum Spp. และได้หาปริมาณ 8-methyl-nonenoic acid ด้วยการสกัดด้วย petroleum ether และทำสารสกัดที่ได้ให้อยู่ในรูปของ free acid ด้วยการ saponification ด้วย 0.5 M NaOH ใน MeOH จากนั้นทำให้อยู่ในรูป methyl ester ด้วยการทำปฏิกิริยากับ BF_3 และสกัดด้วย Hexane และนำไปวิเคราะห์ด้วย GS-MS เพื่อเปรียบปริมาณของสารในแต่ละกลุ่มการทดลอง

2.3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณของสารในกลุ่ม Volatile compound

ในปี ค.ศ.2009 Ziino และคณะ [49] ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณของ Volatile compounds ด้วยเทคนิค HS-SPMS/GC/MS ในตัวอย่างพริก ดังนี้

1. *C. annuum* var. *abbreviatum* (Vulcan, Corno di capra, Naso di cane)
2. *C. annuum* var. *cerasiferum* (Ciliegino)
3. *C. annuum* var. *fasciculatum* (Sigaretta, Amando)

พบว่า ในพริกตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์นั้น สามารถแยกสาร Volatile compounds ได้ 64 ชนิด ซึ่งสามารถจำแนกออกเป็นกลุ่มดังนี้ alcohols, aldehydes, terpenes และ aliphatic branched-chain hydrocarbons

ตาราง 2. 23 volatile compounds indentified in sex varities of Calabrian

Table 3. Volatile compounds identified in six varieties of Calabrian *Capsicum annuum*

No.	Compound	LRI[a]	Reference(s)
1	Acetone	818	15
2	Ethyl acetate	890	9,11,15
3	2-Butanone	907	15
4	3-Methylbutanal	917	8,9,15
5	Diacetyl	931	15
6	2-Pentanone	981	
7	Hexanal	1083	6,8,9,11–15
8	3-Pentanol	1109	
9	(*E*)-2-Pentenal	1134	
10	1-Butanol	1143	15
11	1-Penten-3-ol	1158	15
12	2-Heptanone	1185	12,15
13	Heptanal	1187	8,15
14	Limonene	1202	8,12,13
15	2-Hexanol	1205	
16	(*E*)-2-Hexenal	1224	6,8,12,14
17	1-Pentanol	1248	
18	1-Hexen-3-ol	1249	
19	*p*-Cimene	1278	
20	Octanal	1293	6,8,15
21	Methyl heptanoate	1297	15
22	4-Methyl-1-pentanol	1310	
23	(*Z*)-2-Penten-1-ol	1318	
24	(*E*)-2-Heptenal	1330	8
25	2-Hexenyl acetate	1335	
26	6-Methyl-5-hepten-2-one	1341	
27	1-Hexanol	1349	15
28	(*E*)-3-Hexen-1-ol	1351	15
29	4-Methyltridecane	1354	
30	(*Z*)-3-Hexen-1-ol	1362	
31	2-Nonanone	1394	
32	(*E*)-2-Octenal	1437	
33	Ethyl octanoate	1437	

Table 3. (*Continued*)

No.	Compound	LRI[a]	Reference(s)
34	4-Methyltetradecane	1455	
35	Acetic acid	1461	9
36	2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazine	1477	
37	α-Cubebene	1483	
38	2-Ethyl-1-hexanol	1487	15
39	Pentadecane	1500	8
40	α-Copaene	1505	
41	Hexyl butanoate	1520	
42	Benzaldehyde	1529	6,9,12,14,15
43	2-Isobutyl-3-Methoxypyrazine	1531	8,9,15
44	(*E*)-2-Nonenal	1543	8,12
45	β-Linalool	1544	
46	β-Elemene	1600	8,13
47	Ethyl decanoate	1640	
48	L-Menthol	1644	
49	Benzylacetaldehyde	1658	9
50	α-Himacalene	1663	12
51	Heptadecane	1700	8
52	γ-Muurolene	1713	
53	β-Himacalene	1720	8
54	Valencene	1727	
55	α-Muurolene	1736	12,15
56	δ-Gualene	1739	
57	δ-Cadinene	1743	
58	Methyl salicylate	1769	12
59	Geraniol	1791	
60	Hexanoic acid	1848	
61	Geranyl valerate	1871	
62	β-Ionone	1935	8
63	Phenol	2016	9,15
64	*trans*-Nerolidol	2036	

[a] Linear retention index calculated on CP-Wax.

ตาราง 2. 24 volatile fraction cpmposition as single coponents and classes of substances of different varities of Calabrian *Capsicum annuum*

Table 4. Volatile fraction composition[a] as single components and classes of substances of different varieties of Calabrian *Capsicum annuum*

Compound	Vulcan	Como di capra	Naso di cane	Ciliegino	Sigaretta	Amando
Alcohols						
2,3-Butanediol	565b	1101c	373b	1199c	431b	186a
3-Pentanol	303c	230b	– a	340c	– a	– a
1-Butanol	14a	216c	85b	– a	– a	– a
1-Penten-3-ol	1146c	1058c	291a	1837d	741b	614b
2-Hexanol	257b	208b	– a	617c	279b	203b
1-Pentanol	– a	– a	– a	87b	– a	– a
4-Methyl-1-pentanol	946c	766bc	261a	335a	1370d	634b
(*Z*)-2-Penten-1-ol	733d	635cd	134a	761d	379b	551c
1-Hexanol	8794b	8572b	1459a	14239c	7426b	12230c
(*E*)-3-Hexen-1-ol	213a	1274d	192a	600b	601b	976c
(*Z*)-3-Hexen-1-ol	1460b	1905b	374a	1454b	2445c	2743c
(E)-2-hexen-1-ol	17625bc	28147d	3389a	20197c	13345b	30043d
2-Ethyl-1-hexanol	104c	78b	70b	26a	24a	28a
Phenol	– a	82c	49b	49b	45b	39b
Aldehydes						
2-Methylbutanal	119b	53a	37a	355c	166b	112b
Hexanal	3287c	407a	122a	2130b	3172c	556a
(*E*)-2-Pentenal	133c	21a	– a	85b	86b	80b
Heptanal	9b	29c	– a	– a	52d	– a
(*E*)-2-Hexenal	4709c	6323d	856a	4351bc	3378b	5550cd
Octanal	116c	30b	– a	– a	– a	– a
(*E*)-2-Heptenal	152c	– a	– a	50b	143c	26b
(*E*)-2-Octenal	216d	– a	– a	98b	204d	142c
Benzaldehyde	128bc	99ab	99ab	90a	134c	92a
(*E*)-2-Nonenal	214b	– a	– a	– a	– a	– a
Benzylacetaldehyde	– a	– a	48b	78c	– a	– a
Acids						
Acetic acid	230b	311c	147a	324c	107a	94a
Hexanoic acid	181c	110b	68a	166c	223d	233d
Ketones						
Acetone	– a	988c	102a	730b	– a	– a
2-Butanone	– a	– a	– a	190b	– a	– a
2-Pentanone	1599d	1043c	144a	1255c	720b	280a
2-Heptanone	65a	67a	21a	572b	– a	– a
6-Methyl-5-hepten-2-one	12a	127c	62b	123c	63b	43b
Terpenes						
Limonene	82bc	29a	101d	93bc	71b	68b
p-Cimene	– a	– a	– a	– a	249b	– a
α-Cubebene	145b	461d	82ab	70a	243c	91ab
α-Copaene	385a	526a	322a	303a	1592b	525a
β-Linalool	– a	– a	– a	189c	231d	75b
β-Elemene	143a	802d	226ab	418c	891d	374bc
L-Menthol	– a	– a	30c	21b	– a	– a
α-Himacalene	487b	1022d	444b	164a	762c	251a
γ-Muurolene	1432b	1240b	1970c	320a	2548d	991b
β-Himacalene	– a	– a	– a	58b	– a	– a

ตาราง 2. 23 volatile fraction cpmposition as single coponents and classes of substances of different varities of Calabrian *Capsicum annuum* (ต่อ)

Table 4. *(Continued)*

Compound	Vulcan	Corno di capra	Naso di cane	Ciliegino	Sigaretta	Amando
Valencene	– a	– a	– a	27a	238c	72b
α-Muurolene	116c	447d	98bc	58b	– a	– a
δ-Guaiene	– a	– a	– a	36b	– a	– a
δ-Cadinene	– a	– a	– a	– a	223c	78b
Geraniol	– a	– a	– a	– a	223b	233b
Geranyl valerate	35a	107c	81b	12a	128c	105bc
β-Ionone	143c	98b	61a	67ab	159c	174c
trans-Nerolidol	66ab	– a	28a	– a	744c	143b
Esters						
Ethyl acetate	133b	313c	89b	283c	– a	– a
Methyl heptanoate	– a	– a	– a	– a	280b	393c
2-Hexenyl acetate	90d	73c	– a	– a	– a	20b
Ethyl octanoate	– a	49b	– a	– a	– a	– a
Hexyl butanoate	364a	294a	283a	212a	1636c	911b
Ethyl decanoate	– a	– a	87c	36b	80c	75c
Methyl salicylate	1377b	817a	740a	2927c	2432c	1147ab
Hydrocarbons						
4-Methyltridecane	2679b	2860b	1995a	4271c	3934c	2604b
4-Methyltetradecane	310a	852b	1203bc	124a	2383d	1508c
Pentadecane	159a	574cd	314b	56a	696d	465c
4-Methylpentadecane	162a	696c	336b	122a	114a	736c
4-Methylhexadecane	85b	148c	177c	21a	363e	248d
Heptadecane	125b	332cd	264c	53a	399d	40a
Others						
2-Methoxy-3-(2-methylpropyl)pyrazine	383a	423a	430a	939c	631b	321a

[a] Arbitrary scale as peak area.
Means followed by different letters in the same row are significantly different ($P \leq 0.01$) by Duncan's multiple range test.

ในปี ค.ศ. 2010 Adrian และคณะ [74] ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสาร Volatile Compound ในพริกตัวอย่าง 16 สายพันธุ์ใน 3 สปีชีส์ (annuum, chinense, frutescens) ด้วยเทคนิค HS-SPME/GC-sniffing port-MS พบว่า มีสาร Volatile Compound จำนวนมากกว่า 300 ชนิด ที่สามารถตรวจพบในพริกตัวอย่าง ซึ่งสารส่วนใหญ่จะอยู่ในกลุ่มของ Esters และ terpenoids และรองลงมาจะอยู่ในกลุ่มของสารประกอบ nitrogen และ sulfur, อนุพันธ์ phenol, norcarotenoids, อนุพันธ์ lipoxygenase, carbonyls, alcohols, และสาร hydrocarbons ชนิดอื่นๆ

ตาราง 2. 24 Total Capsaicinoids Content, Total Volatile Content, and Overall Aroma Description of the Evaluated Capsicum Accessions

Table 2. Total Capsaicinoid Content, Total Volatile Content, and Overall Aroma Description of the Evaluated *Capsicum* Accessions

accession (abbreviation)	total capsaicinoids[a] ($\mu g\ g^{-1}$)	total volatiles[a] (peak area × 10^6)	aroma description/intensity[b]
C. annuum			
Aci Sivri (ACI)	385 e	4332 e	fruity, sweet, paprika, vegetable/3
Bierzo (BIE)	<1 a	39 a	earthy, green, paprika/1
Chile Arbol (ARB)	724 f	1788 c	fruity, sweet, peach, paprika/2.5
Di Senise (SEN)	<1 a	41 a	sweet, vegetable, paprika/1
Doux d'Alger (DOU)	<1 a	32 a	green, earthy, paprika/1
Jalapeno M (JAL)	142 d	183 b	green, earthy, vegetable, paprika/2.5
Numex Big Jim (NUM)	85 c	272 b	sweet, exotic, earthy, paprika/2
Piparra (PIP)	3 b	253 b	earthy, paprika, fuel/1.5
Piquillo Lodosa (PIO)	<1 a	49 a	earthy, green, paprika/1
Poblano L (POB)	<1 a	40 a	earthy, green, paprika, sulfurous/2
Serrano (SER)	540 ef	1640 c	green, peasy, paprika, fruity/3
Valenciano (VAL)	<1 a	61 a	green, vegetable, unripe nut/1
C. chinense			
ECU-994 (994)	1641 gh	6879 f	sweet, fruity, exotic, spicy/4
C. frutescens			
Laotian (LAO)	1120 g	4404 e	fruity, sweet, exotic, paprika/ 3.5
Pebrera (PEB)	1802 h	3392 d	fruity, sweet, exotic, paprika/3
Tabasco (TAB)	3255 i	3525 d	sweet, fruity, pungent, spicy/ 3.5

[a] Mean corresponding to $n = 5$ samples. Means followed by different letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's test. [b] On the basis of the odor impressions of four panelists. Aroma intensity is described on a 1–4 scale (1, low; 2, moderate; 3, intense; 4, very intense).

2.4 เอกสารอ้างอิง

1. สัมพันธ์ คัมภิรานนท์. 2546. **พริกเรื่องเผ็ดร้อนที่น่ารู้. Up DATE** 18(191): 45-54.

2. Purseglove, J.W., E.G. Brown, C.L. Green and S.R.J. Robbins. 1981. **Chillies: Capsicum spp., Spices. Vol 1.** Longman Publ. Co. Inc., London.

3. พยนต์ คุ้มภัย, นริศร์ ขจรผล และ ปรีดา จาติกวนิช. 2536. การศึกษาพันธุ์พริกในประเทศไทย. **วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร** 16(4): 295-303.

4. พิทยา สรวมสิริ. 2529. **พืชเครื่องเทศ**. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

5. Eshbaugh, W.H. 1979. A biosystematic and evolutionary study of the *Capsicum pubescens* complex. **Nat. Geogr. Soc. Res. Rep.** 42: 143-162.

6. IBPGR Secretariat. 1983. **"Genetic Resources of Capsicum" International Board for Plant Genetic Resources.** AGPG/IBPGR, Rome.

7. Worayos, Y. 1986. Collection of capsicum Germplasm in thailand. **IBPGR Newslettter**. 10(3): 175-182.

8. มณีฉัตร นิกรพันธุ์. 2541. **พริก**. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

9. Pickersgill, B. 1967. Interspecific isolating mechanisms in some South American chilli pepper. **Amer. J. Bot.** 54:654.

10. เฉลิมเกียรติ โภคาวัฒนา. 2540. **พริก**. เกษตรก้าวหน้า. 12 (2): 1-40.

11. Stecher, P.G., M. Windholz, D.S. Leahy, D.M. Balton and L.G. Eaton. 1968. **Merck Index; The Encyclopedia of Chemicals and Drugs.** Merck and Rahway N.J., Co., Inc.,New Jersey.

12. Surh YJ and et al. 1995. Metabolism of capsaicinoids:evidence for aliphatic hydroxylation and its pharmacological implications. **Life sci.** 16 : 305-311.

13. Wikipedia. 2005. Capsaicin Structure. **The free encyclopedia**. Available Source http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Capsaicin-structure.png, August 29, 2005.

14. Smith, P.G. 1978. Horticultural classification of peppers. **The 4th National Pepper Conference**. Baton Rouge, Los Angeles.

15. Kim, K., R. Varinda, K. Cho, J. Kim and S. Lee. 2000. Comparison of accumulation of capsaicinoid synthetase activity at different development stages of *Capsicum annuum* L. **Agric. Chem. Biotechnol.** 43(3): 152-155.

16. Maga, J.A. 1975. Capsicum. **Crit. Rev. Food Sci. Nutri.** 6(2): 177-199.

17. Iwai, K., T. Suzuki and H. Fujiwake. 1979. Formation and accumulation of pungent principle of hot pepper fruits, capsaicin and its analogues, in *Capsicum annuum* var. *annuum* cv. karayatsubusa at different growth stages after flowering. **Agric. Biol. Chem.** 43(12): 2493-2498.

18. Collins, M.D., L.M. Wasmund and P.W. Bosland. 1995. Improved method for quantifying capsaicinoids in capsicum using high performance liquid chromatography. **Hort Science** 30(1):137-139.

19. Harvell, K. P. and P.W. Bosland. 1997. The environment produces a significant effect on pungency of chiles. **Hort Science** 32(7): 1292.

20. Scoville, W. L. 1912. Note Capsicum. **J. Am. Pharm. Asso.** 1: 451-453.

21. พันธุ์ทิพย์ ปานกลาง. 2547. **ลักษณะทางกายภาพ ปริมาณ oleoresin และความเผ็ดของผลพริก.**

วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

22. Govindarajan, V.S. 1986. Capsicum-production, technology, chemistry and quality part 2, processed products, standard, world production and trade. **Crit. Rev. Food Sci. Nutri**. 21(3): 207-288.

23. Bennet, D. J.; Kirby, G. W. 1968. Constitution and biosynthesis of capsaicin. **J. Chem. Soc. C.** 442.

24. PRASAD, V, C, N. and et al. 2006. Influence of 8-Methyl-nonenoic Acid on Capsaicin Biosynthesis in In-Vivo and In-Vitro Cell Cultures of Capsicum Spp. J. **Agric. Food Chem**. 54, 1854-1859

25. PRASAD, V, C, N. and et al. 2006. Valine Pathway Is More Crucial than Phenyl Propanoid Pathway in Regulating Capsaicin Biosynthesis in *Capsicum frutescens Mill*. **J. Agric. Food Chem.** 54, 6660-6666.

26. Plant Metaboroc Network. 2009. capsaicin biosynthesis. http://www.plantcyc.org:1555/PLANT/NEW-IMAGE?type=PATHWAY&object=PWY-5710, September 9, 2009.)

27. Merk, O.N. 1978. **Commercial Chicken Production Manual**. The AVI publishing Co. Inc., Connecticut.

28. I. Pott, D. E. Breithaupt and R. Carlec, 2003. **Phytochemistry.** 64. 825–829.

29.G. Leach, G. Oliveira and R. Morais, 1998. **J Sci Food Agric.** 76. 298-302.

30. Jeana, G. 1991. **Pigments in Vegetables**. Van Nostrand Reinhold, USA.

31. Hirschberg, J. **2001**. Carotenoid biosynthesis in flowering plants. **Plant Biology**, **4**:210–218

32. Plant Metaboroc Network. 2009. capsanthin biosynthesis, β-carotene biosynthesis, capsanthin and capsorubin biosynthesis, antheraxanthin and violaxanthin biosynthesis, http://www.plantcyc.org/, September 9, 2009.

33. Yazawa, S.; Suetome, N.; Okamoto, K.; Namiki, T. 1989. Content of Capsaicinoids and Capsaicinoid-like Substances in Fruit of Pepper (*Capsicum annuum* L.) Hybrids Made with "CH-19 Sweet" as a Parent. **J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.** 58. 601-607.

34. Ohnuki, K., Niwa, S., Maeda, S., Inouf, N., Yazawa, S.,Fushiki, T., 2001. CH-19 Sweet, a Non-Pungent Cultivar of Red Pepper, Increased Body Tenperature and Oxygen Consumption in Humans. **J. Biosci. Biotechnol. Biochem.**, 65. 9.

35. Onuki, K.; Hararmizu, S.; Watanabe, T.; Yazawa, S.; Fushiki, T. 2001. Administration of capsiate, a non-pungent capsaicin analog, promotes energy metabolism and suppresses body fat accumulation in mice. **Biosci., Biotechnol., Biochem.**, 65. 2375–2380.

36. Rosa, A.; Deiana, M.; Casu, V.; Paccagnini, S.; Appendino, G.; Ballero, M.; Dessi, M. A. 2002. Antioxidant activity of capsinoids. J. **Agric. Food Chem.** 50, 7396–7401.

37. Eun-J. L., Myung-S. J., Byung-D. K., Jeong-H. K., Young-G. K., Hyangkyu, L, Yun, S. L., Jeong-H. Y., Tae-Y. K., 2010. Capsiate inhibits ultraviolet B-induced skin inflammation by inhibiting Src family kinases and epidermal growth factor receptor signaling. **J. Free Radical Biology & Medicine.** 48. 1133–1143.

38. Iida, T.; Moriyama, T.; Kobata, K.; Morita, A.; Murayama, N.; Hashizume, S.; Fushiki, T.; Yazawa, S.; Watanabe, T.; Tominaga, M. 2003. TRPV1 activation and induction of nociceptive response by a non-pungent capsaicin-like compound, capsiate. **Neuropharmacology**. 44. 958-967.

39. Macho, A.; Lucena, C.; Sancho, R.; Daddario, N.; Minassi, A.; Mun¯ oz, E.; Appendino, G. 2003. Non-pungent capsaicinoids from sweet pepper, synthesis and evaluation of the chemopreventive and anticancer potential. **Eur. J. Nutr.** 42, 2-9.

40. Kouzou, S., Kenji, K., Susumu, Y., Tatsuo, W., 2006. Capsinoid Is Biosynthesized from Phenylalanine and Valine in a Non-Pungent Pepper, Capsicum annuum L. cv. CH-19 Sweet. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 70, 1513-1516

41. Lang, Y., Kisaka, H., Sugiyama, R., Nomura, K., Morita, A., Watanabe, T., Tanaka, Y., Yazawa, S., Miwa, T., 2009. Functional Loss of *p-AMT* Results in Biosynthesis of Capsinoids, Capsaicinoid Analogs, in Capsicum annuum cv. CH-19 Sweet. **The Plant Journal.** 59.

42. Tanaka, Y., Hosokawa, M., Miwa, T., Watanabe, T.,Yazawa, S., 2010. Newly Mutated *putative-aminotransferase* in Nonpungent Pepper (*Capsicum annuum*) Results in Biosynthesis of Capsinoids, Capsaicinoid Analogues. **J. Agric. Food Chem.,** 58.

43. Gálvez A.P., Fernández J.G., Mosquera M., Ruiz M.L., Espinosa V.M., 1999. Fatty Acid Composition of Two New Pepper Varieties (Capsicum annuum L. cv. Jaranda and Jariza) Effect of Drying Process and Nutritional Aspects. **Journal of the American Oil Chemists' Society.** 76(2). 205–208.

44. บริษัท กรุงเทพ พยาธิ-แลป จำกัด. 2012. CHOLESTEROL –TRIGLYCERIDES AND HEALTHY HEART. (ออนไลน์). http://www.yourhealthyguide.com/article/aco-cholesterol-triglyceride.htm. March 24, 2012.

45. Robert E. Smith, John W. Finley, and Gilbert A. 1994. Overview of SALATRIM: A family of low-calorie fats Leveille. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 42, 432-434.

46. Osborn, H.T. and Akoh, C.C. 2002. Enzymatically modified beef tallow as a substitute for cocoa butter. **J. of Food Science.** 2480-2485.

47. F. Van Immerseel, J. De Buck, F. Boyen, L. Bohez, F. Pasmans, J. Volf, M. Sevcik, I. ychlik, F. Haesebrouck and R. Ducatelle., 2004. Medium-Chain Fatty Acids Decrease Colonization and Invasion through *hilA* Suppression Shortly after Infection of Chickens with *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis. **Appl. Environ. Microbiol.** 70. 3582-3587.

48. Jay J. Thelen and John B. Ohlrogge. 2002. Metabolic Engineering of Fatty Acid Biosynthesis in Plants. **Metabolic Engineering.** 4. 12–21

49. Ziino, M. and et al. 2009. Volatile compounds and capsaicinoid content of fresh hot peppers Capsicum annuum L. of different Calabrian varieties. **Journal of the Science of Food and Agriculture.** 89, 774-780.

50. Buttery RG, Seifert RM, Guadagni DG, Ling L. 1969. Characterization of some volatile constituents of bell peppers. **J Agric Food Chem.** 17(6). 1322-1327.

51. Keller U, Flath RA, Mon TR, Teranishi R. 1981. Volatiles from red pepper (Capsicum spp.). **ACS Symp Ser – ACS.** 170. 137-146.

52. Chitwood RL, Pangborn RM, Jennings W. 1983. GC/MS and sensory analysis of volatiles from three cultivars of capsicum. **Food Chem.** 11(3). 201-216.

53. Wu CM, Liou SE. 1986. Effect of tissue disruption on volatile constituents of bell peppers. **J Agric Food Chem.** 34(4). 770-772.

54. Luning PA, de Rijk T, Wichers HJ, Roozen JP. 1994. Gas chromatography, mass spectrometry, and sniffing port analyses of volatile compounds of fresh bell peppers (Capsicum annuum) at different ripening stages. **J Agric Food Chem.** 42(4). 977-983.

55.Mateo J, Aguirrezábal M, Domínguez C, Zumalacárregui JM. 1997. Volatile compounds in Spanish paprika. **J Food Compos Anal.** 10(3). 225-232.

56. Kim I, Abd El-Aty AM, Shin H, Lee HB, Kim I, Shim J. 2007. Analysis of volatile compounds in fresh healthy and diseased peppers (Capsicum annuum L.) using solvent free solid injection coupled with gas chromatography-flame ionization detector and confirmation with mass spectrometry. **J Pharm Biomed Anal.** 45(3). 487-494.

57. Pino J, González M, Ceballos L, Centurión-Yah AR, Trujillo-Aguirre J, Latournerie-Moreno L, Sauri-Duch E. 2007. Characterization of total capsaicinoids, colour and volatile compounds of Habanero chilli pepper (Capsicum chinense Jack.) cultivars grown in Yucatan. **Food Chem.** 104(4). 1682-1686.

58. Forero MD, Quijano CE, Pino JA. 2009. Volatile compounds of chile pepper (Capsicum annuum L. var. glabriusculum) at two ripening stages. **Flavour and Fragr J.** 24(1). 25-30.

59. Chen G, Hackett R, Walker D, Taylor A, Lin Z, Grierson D. 2004. Identification of a specific isoform of tomato lipoxygenase (TomloxC) involved in the generation of fatty acid-derived flavor compounds. **Plant Physiol.** 136(1). 2641-2651.

60. Luning PA, Carey AT, Roozen JP, Wichers HJ. 1995a. Characterization and occurrence of lipoxygenase in bell peppers at different ripening stages in relation to the formation of volatile flavor compounds. **J Agric Food Chem.** 43(6). 1493-1500.

61. Jarret, R. L.; Perkins, B.; Fan, T.; Prince, A.; Guthrie, K.; Skoczenski, B. inventor. 2003, using EIA to screen *Capsicum* spp. Germplasm for capsaicinoids content. **J. Food Compos. Anal.** *16*, 189-194.

62. Kozukue, N.; Han, J-S.; Kozukue, E.; Lee, S-j.; Kim, J-A.; Lee, K-R.; Levin, C. E. and Friedman, M. 2005. inventor; Analysis of eight capsaicinoids in peppers and pepper-containing foods by hight-performance liquid chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry. **J. Agric. Food Chem.** *53*, 9172-9181.

63. Topuz, A.; Ozdemir, F. inventor. 2007. Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annuum* L) grown in Turkey. **J. Food Compos. Anal.** *20*, 596-602.

64. Cisneros-Pineda, O.; Torres-Tapia, L. W.; Gutiérreze-Pacheco, L. C.; Contreras-Martin, F.; González-Estrada, T.; Peraza-Sánchez, S. R. 2007. inventor; Capsaicinoids quantification in chili peppers cultivated in the state of Yucatan, Mexico. **Food Chem.** 104, 1755-1760

65. Peña-Alvarez, A. Ramirez-Maya, E.; Alvarrado-Suárez, L. Á. 2009. inventor; Analysis of capsaicin and dihydrocapsaicin in peppers and pepper sauces by solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. **J. Chromatogr. A.** 1216, 2843-2847.

66. Tanaka, Y.; Hosokawa, M.; Otsu, K.; Watanabe, T. and Yazawa, S. inventor. 2009. Assessment of capsiconinoid composition, nonpungent capsaicinoid analogues, in *Capsicum* cultivars. **J. Agric. Food. Chem. A.** 57, 5407-5412.

67. Singh, S. and et al. 2009. Determination of Capsinoids by HPLC-DAD in *Capsicum* Species **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 57, 3452-3457.

68. O. Collera-Zuniga and et al. 2005. Comparative study of carotenoid composition in three mexican varieties of *Capsicum annuum* L. **Food Chemistry**. 90, 109–114.

69. A. Topuz, F. Ozdemir and et al. 2007. Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (Capsicum annuum L.) grown in Turkey. **Journal of Food Composition and Analysis**. 20, 596–602

70. Sun-Hwa Ha and et al. 2007. A comparison of the carotenoid accumulation in *Capsicum* varieties that show different ripening colours: deletion of the capsanthin-capsorubin synthase gene is not a prerequisite for the formation of a yellow pepper. **Journal of Experimental Botany**. 25, 1-10

71. G. Aruna and V. Baskaran. 2010. Comparative study on the levels of carotenoids lutein, zeaxanthin and β-carotene in Indian spices of nutritional and medicinal importance. **Food Chemistry**. 123, 404–409.

72. Laura R., Ivette G., Wathsala R., R.D. Richins and M.A. O'Connell, 2011. "Carotenoid accumulation in orange-pigmented Capsicum annuum fruit, regulated at multiple levels", **Journal of Experimental Botany,** 1-10.

73. Gálvez, A. P. and et al. 1999. Fatty Acid Composition of Two New Pepper Varieties (Capsicum annuum L. cv. Jaranda and Jariza). Effect of Drying Process and Nutritional Aspects. **JAOCS.** 76, 205–208.

74. Adrian, R.B. and et al. 2010. Analysis of the Volatile Aroma Constituents of Parental and Hybrid Clones of Pepino (*Solanum muricatum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry.**)

บทที่ 3

การทดลอง วิธีการทดลอง ผลการทดลอง สรุปผลการทดลอง

3.1 การเลือกสายพันธุ์พริกและการปลูกพริกตัวอย่าง

เลือกสายพันธุ์พริกจากธนาคารเชื้อพันธุกรรมพืช (Germplasm unit) ของศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน นครปฐม โดยแบ่งพริกเป็น 2 ประเภท คือ พริกผลใหญ่ (พริกหนุ่ม พริกชี้ฟ้า พริกหยวก พริกหวาน และพริกประดับ) จำนวน 141 accessions พริกผลเล็ก (พริกขี้หนูผลใหญ่ พริกขี้หนูผลเล็ก พริกช่อ และพริกขี้หนูประดับ) จำนวน 147 accessions และพันธุ์พริกที่ปลูกเป็นการค้าในประเทศไทย จำนวน 38 พันธุ์ รวมเป็นจำนวนพันธุ์พริกทั้งหมด 326 สายพันธุ์ ซึ่งพริกส่วนใหญ่เป็น *Capsicum annuum* 257 สายพันธุ์ *C. frutescense* 52 สายพันธุ์ *C. chinense* 11 สายพันธุ์ และ *C. baccatum* 6 สายพันธุ์

วิธีการทดลอง

เพาะกล้าพริกในถาดเพาะกล้าขนาด 104 ช่อง วันที่ 8 กันยายน 2553 ย้ายปลูกลงถ้วยพลาสติกขนาด 3 นิ้ว วันที่ 9 ตุลาคม 2553 และย้ายปลูกลงแปลงทดลองวันที่ 12-19 พฤศจิกายน 2553 โดยเตรียมแปลงปลูกขนาด 1.6 x 6.0 เมตร ปลูกพริก 2 แถวต่อแปลง แถวละ 12 ต้น ใช้ระยะปลูกระหว่างแถว 80 เซนติเมตร ระยะระหว่างต้น 50 เซนติเมตร ใช้พลาสติกสีดำ-เงินคลุมแปลงปลูก เพื่อป้องกันวัชพืช และขึงตาข่ายไนล่อนสีขาวขนาด 20 mesh สูงจากพื้นดิน 2 เมตร เต็มพื้นที่แปลงปลูกเพื่อพรางแสงประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำแบบปล่อยตามร่อง เริ่มเก็บเกี่ยวผลผลิตวันที่ 28 มกราคม 2554 สิ้นสุดวันที่ 22 มีนาคม 2554 โดยเก็บเกี่ยวสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

เมล็ดพันธุ์พริกจำนวน 288 accessions จากธนาคารเชื้อพันธุกรรมพืช ของศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน นครปฐม เก็บรักษาในห้องเย็นควบคุมอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ความชื้น 40-50 %RH สายพันธุ์เหล่านี้ส่วนใหญ่มิใช่สายพันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้า แต่เป็นสายพันธุ์ที่ปลูกกันในท้องถิ่นทั้งในประเทศไทยและประเทศต่างๆ ในทวีปเอเชีย ยุโรปและอเมริกา จึงพบความแปรปรวนของลักษณะต่างๆ มากบ้างน้อยบ้างในแต่ละสายพันธุ์ สายพันธุ์ที่มีลักษณะแตกต่างกันมากในสายพันธุ์เดียวกัน เช่น มีต้นที่สีผลเขียว และต้นที่สีผลขาวปะปนกัน บางต้นผลชี้ขึ้น/บางต้นผลชี้ลง บางต้นรูปร่างผลกลม/บางต้นผลเรียวยาว เป็นต้น จัดเป็นสายพันธุ์ที่มีความแปรปรวนสูง (ในภาคผนวก ก ตารางที่ ก-1 ช่อง Line variation ให้ข้อมูลว่า Mixed) มี 54 สายพันธุ์ หากสายพันธุ์เหล่านี้มีปริมาณสารในผลที่วิเคราะห์ได้สูง จำเป็นต้องผ่านขบวนการคัดเลือก ทำสายพันธุ์ให้มีความบริสุทธิ์ก่อนนำไปใช้ประโยชน์ ส่วนพริกพันธุ์การค้า 38 พันธุ์ มีความสม่ำเสมอของลักษณะต่างๆ ในสายพันธุ์ดี

ลักษณะประจำพันธุ์และผลผลิต (ในภาคผนวก ก ตารางที่ ก-2) เป็นข้อมูลที่เก็บจากแปลงปลูกพริกของศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม โดยมีสภาพอากาศของช่วงที่ปลูก ซึ่งเป็นช่วงปลายฤดูฝนต่อฤดูหนาว มีฝนตกหนักช่วงต้นฤดู แต่หลังจากย้ายปลูกลงแปลงแล้วไม่มีฝนตก อุณหภูมิเฉลี่ยตอนกลางวันในช่วงออกดอกติดผลประมาณ 30-32 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเฉลี่ยตอนกลางคืนประมาณ 19-22 องศาเซลเซียส สำหรับลักษณะประจำพันธุ์ที่บันทึกข้อมูลคือ

1. ประเภทของพริก (type) เช่น พริกหนุ่ม พริกขี้หนู
2. จำนวนดอกในแต่ละข้อ (no. of flowers/axis)
3. สีกลีบดอก (corolla color)
4. ลักษณะก้านดอก (pedicel position) เช่น pendant = ชี้ลง, erect = ชี้ขึ้น
5. ลักษณะทรงต้น
   - การเติบโต (growth habit) ; พุ่ม (compact), สูงต้นตั้ง (erect)
   - ความสูงทรงพุ่ม (height) วัดที่อายุเก็บเกี่ยวครั้งแรก
   - ความกว้างทรงพุ่ม (width)
6. อายุดอกบาน (days to flower) นับอายุจากวันเพาะกล้า (day after sowing, DAS)
7. อายุเก็บเกี่ยว (days to harvest) นับอายุจากวันย้ายปลูกถึงวันที่ผลสุกแดง (day after transplanting, DAT)
8. ลักษณะผล
   - ทิศทางที่ผลชี้ขึ้น-ลง (position) : ห้อยลง (pendant), ชี้ขึ้น (erect)
   - สีผลเมื่อแก่ (color at mature)
   - สีผลสุก (color at ripen)
   - รูปร่างผล (shape) : ยาวเรียว (elongate) ปลายแหลม (triangular)
   - น้ำหนักผล (weight)
   - ความกว้างผล (width)
   - ความยาวผล (length)
   - ความหนาเนื้อผล (flesh thickness)
9. ความแปรปรวนของลักษณะต่างๆ ในสายพันธุ์ (line variation)
10. ผลผลิต (yield) (กก./ไร่)
    - ผลผลิตดี (marketable)
    - ผลผลิตเสีย (non-marketable) เช่น ผลเน่าจากแมลงและโรค
    - ผลผลิตรวม (total) คือ ผลผลิตดีและผลผลิตเสียรวมกัน
11. ผลพริกต่อต้น (total fruit/plant)
    - จำนวนผลต่อต้น
    - น้ำหนักผลต่อต้น

การผลิตตัวอย่างผลพริกเพื่อวิเคราะห์สารประกอบ ผลพริกที่นำมาวิเคราะห์สารประกอบในผล เป็นผลพริกสุกแดงทั้งผล เก็บเกี่ยววันเดียวกันจากต้นพริกในสายพันธุ์เดียวกัน โดยเลือกช่วงเก็บเกี่ยวที่ได้ผลผลิตผลสุกแดงจากสายพันธุ์นั้นๆ มากที่สุด การเก็บเกี่ยวผลพริกเริ่มในตอนเช้าโดยเก็บเฉพาะผลที่สุกแดงทั้งผล ทำการคัดเลือกผลที่ดีไม่มีรอยแผลหรือตำหนิ บรรจุผลพริกแต่ละสายพันธุ์ลงในถุงพลาสติก ติดป้ายระบุเบอร์แปลงและชื่อสายพันธุ์ จากนั้นบรรจุลงในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งรองก้นกล่อง และมีฟองน้ำแผ่นหนาประมาณ 1.50 เซนติเมตร วางบนก้อนน้ำแข็งป้องกันน้ำแข็งสัมผัสผลพริกโดยตรง และช่วยดูดซับน้ำที่ละลายในกล่อง ปิดกล่องผนึกด้วยเทปกาว อย่างไรก็ดีในวันที่เก็บเกี่ยว พริกบางสายพันธุ์มีผลสุกแดงพร้อมๆ กันน้อย ซึ่งเกิดจากมีจำนวนต้นรอดตายน้อย หรือมีผลเน่าเสียจากโรค แมลงมาก อาจไม่เพียงพอสำหรับใช้วิเคราะห์สารประกอบในผล จากการปลูกพริกทั้งหมด 326 สายพันธุ์ สามารถเก็บผลพริกได้ปริมาณแตกต่างกัน ดังนี้

1. ได้ตัวอย่างผล > 200 กรัม มีจำนวน 175 acc.
2. ได้ตัวอย่างผล 100-200 กรัม มีจำนวน 54 acc.
3. ได้ตัวอย่างผล 50-100 กรัม มีจำนวน 18 acc.
4. ได้ตัวอย่างผล <50 กรัม มีจำนวน 11 acc.
5. ไม่ได้ผลผลิตส่งวิเคราะห์สาร มีจำนวน 68 acc.

พันธุ์พริกที่ไม่ได้ผลผลิต จำนวน 68 สายพันธุ์ มีดังนี้

No.	Plot no.	Accession. number	No.	Plot no.	Accession. number	No.	Plot no.	Accession. number	No.	Plot no.	Accession. number
1	7	CA 1031	18	61	CA 778	35	96	CA 1815	52	135	CA 1031
2	9	CA 1049	19	67	CA 1286	36	102	CA 918	53	149	Wega 1288
3	19	CA 1479	20	69	CA 1305	37	104	CA 1180	54	171	CA 1308
4	20	CA 1482	21	70	CA 1440	38	108	CA 1500	55	172	CA 1317
5	21	CA 1485	22	72	CA 1445	39	110	CA 1503	56	173	CA 1323
6	22	CA 1491	23	75	CA 1521	40	111	CA 1505	57	174	CA 1324
7	23	CA 1514	24	76	CA 1681	41	112	CA 1506	58	175	CA 1328
8	26	CA 1616	25	77	CA 1697	42	114	CA 1508	59	180	CA 1343
9	30	CA 1748	26	78	CA 1698	43	115	CA 1515	60	188	CA 1352
10	39	CA 1474	27	79	CA 1700	44	116	CA 1519	61	242	CA 1282
11	44	CA 1547	28	81	CA 1706	45	117	CA 1525	62	268	CA 1432
12	55	CA 437	29	82	CA 1716	46	123	CA 1696	63	274	CA 1467
13	56	CA 443	30	83	CA 1719	47	124	CA 1721	64	291	พิโรธ จตุพร
14	57	CA 457	31	89	CA 1225	48	125	Habanero	65	294	SR07-0028
15	58	CA 500	32	92	CA 1599	49	128	CA 927	66	317	CA 1567
16	59	CA 516	33	94	CA 1733	50	131	CA 1433	67	319	CA 1331
17	60	CA 651	34	95	CA 1788	51	133	CA 1570	68	325	CA 1527

หมายเหตุ จากพริกที่ปลูกทั้งหมด 326 สายพันธุ์นั้น เมื่อเก็บผลผลิตทั้งได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน เมื่อนำมาเตรียมตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสาร Capsaicinoids, Capsiate, Capsanthin, Beta-carotene, Fatty acid และ VOC พบว่ามีตัวอย่างที่มีปริมาณเพียงพอต่อการวิเคราะห์สารทั้ง 6 กลุ่ม จำนวน 201 สายพันธุ์ (แสดงใน ภาคผนวก ก ตารางที่ ก-3)

3.2 วิเคราะห์หาปริมาณสาร capsaicinoids และ capsiate ในพริกกลุ่มตัวอย่างด้วยเทคนิค HPLC

จากแผนการทดลองทางผู้วิจัยจะต้องดำเนินการวิเคราะห์หาปริมาณของสารในกลุ่ม capsaicinoids และ capsinoids พร้อมกันในตัวอย่างเดียวนั้น แต่จากการทดลองในการสังเคราะห์สารมาตรฐาน capsiate พบว่า สารที่สังเคราะห์ได้มีปริมาณสารผลิตภัณฑ์ต่ำ และเกิดการสลายตัวได้ง่ายเมื่อมีความชื้น หรือกรดเพียงเล็กน้อย ซึ่งทำให้การศึกษาในการวิเคราะห์หาปริมาณของ capsaicinoids และ capsinoids พร้อมกันไม่สามารถดำเนินการได้ ดังนั้นในการศึกษานี้จะแบ่งการศึกษาใหม่เป็นดังนี้คือ การวิเคราะห์หาปริมาณสารในกลุ่ม capsaicinoids ด้วยเทคนิค HPLC และการสังเคราะห์สารในกลุ่ม capsinoids และการหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเทคนิค HPLC

3.2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารในกลุ่ม capsaicinoids ด้วยเทคนิค HPLC

การทดลองนี้นักวิจัยใช้สภาวะเดิมของการวิเคราะห์ปริมาณสาร capsaicinoids ที่ได้ศึกษาในงานวิจัยที่ผ่านมาในโครงการ RDG5020058 ซึ่งได้ทำการหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์แล้ว โดยมีสภาวะในการหาปริมาณสาร capsaicinoids ดังแสดงต่อไปนี้

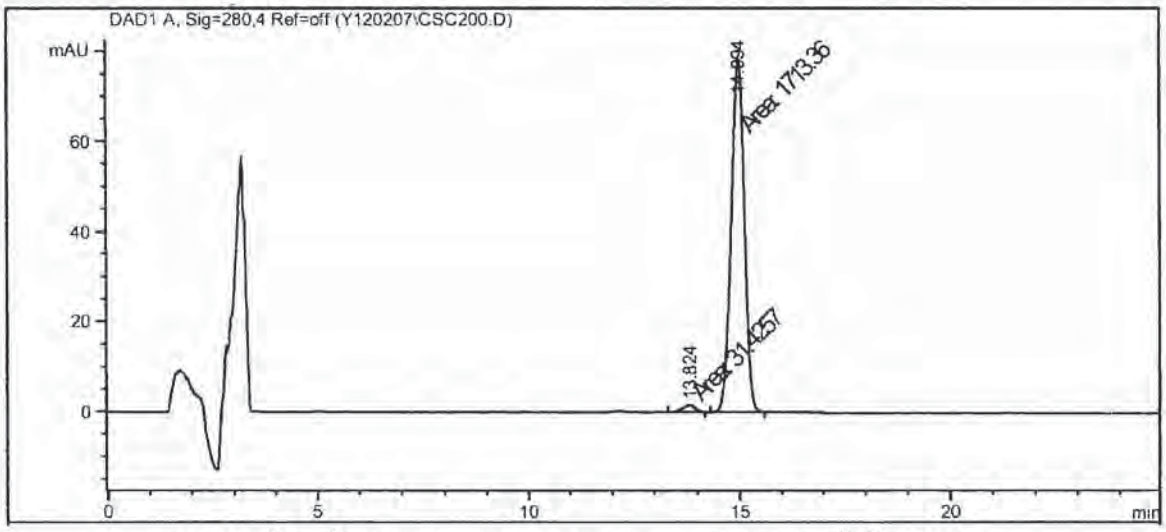
วิธีการทดลอง

ระบบที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณ

HPLC	: Agilent 1100 Series HPLC
Column	: VertiSep UPS C18 HPLC COLUMN, 4.6 x 250 mm, 5 µm
Detector	: DAD detector at 280 nm reference off bandwidth 4 nm
Column temperature	: not control
Mobile phase	: Acetonitrile : Water : Acetic acid (500 : 500 : 1, v/v/v) 0.1% TEA
Flow rate	: 1.2 mL/min

การสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve)

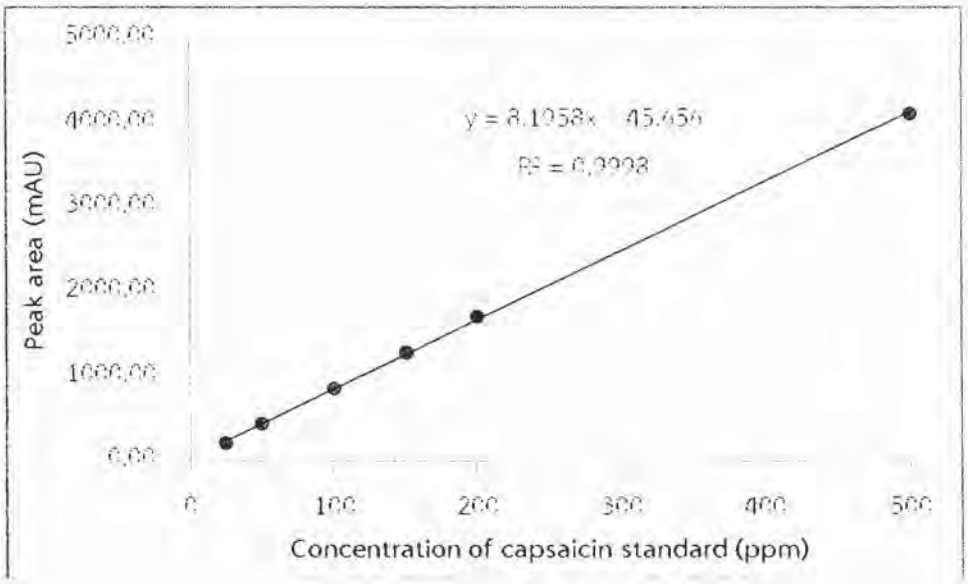
นำสารละลายมาตรฐาน capsaicin 25, 50, 100, 150, 200 และ 500 ppm และสารละลายมาตรฐาน dihydrocapsaicin 20.7, 41.4, 82.8, 124.2, 165.6 และ 414 ppm ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ได้โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน capsaicin และ dihydrocapsaicin แสดงในภาพ 3.1 และ 3.3 พบว่าสารละลายมาตรฐาน capsaicin และ dihydrocapsaicin ปรากฏพีคที่ค่า retention time เท่ากับ 14.99 และ 21.00 นาที จากผลการทดลองที่ได้นำค่าพื้นที่ใต้กราฟแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟความสัมพันธ์กับความเข้มข้นได้สมการเส้นตรงของ capsaicin คือ $y = 8.1958x + 45.656$ มีค่า $R^2 = 0.9998$ และได้สมการเส้นตรงของ dihydrocapsaicin คือ $y = 7.4003x + 7.1028$ มีค่า $R^2 = 0.9999$ แสดงในภาพ 3.2 และ 3.4 ตาราง 3.1 และ 3.2 ตามลำดับ



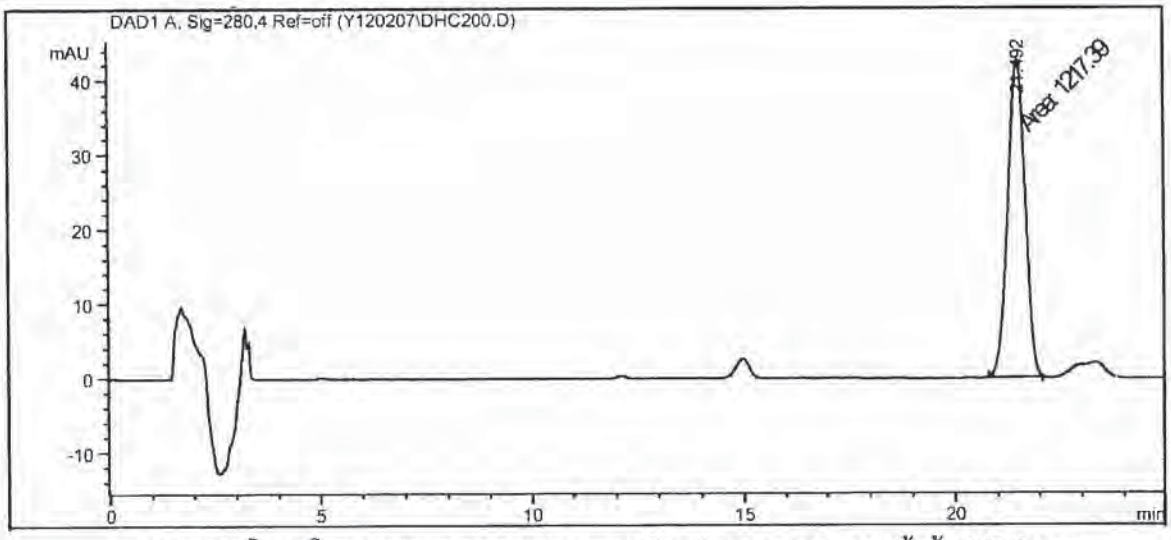
ภาพ 3. 1 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน capsaicin ความเข้มข้น 200 ppm

ตาราง 3.1 ค่าพื้นที่ใต้กราฟ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ของแต่ละความเข้มข้นในช่วงความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน capsaicin ที่ความเข้มข้น 25, 50, 100, 150, 200 และ 500 ppm

conc.	peak area (mAU)			average	SD.	%RSD
25	229.94	227.744	227.56	228.41	1.32	0.6
50	449.13	450.597	450.51	450.08	0.82	0.2
100	863.14	864.369	864.5	864.00	0.75	0.1
150	1285.2	1288.84	1288.5	1287.54	2.00	0.2
200	1713.4	1716.95	1714.7	1714.99	1.82	0.1
500	4130.2	4128.76	4130	4129.65	0.77	0.0



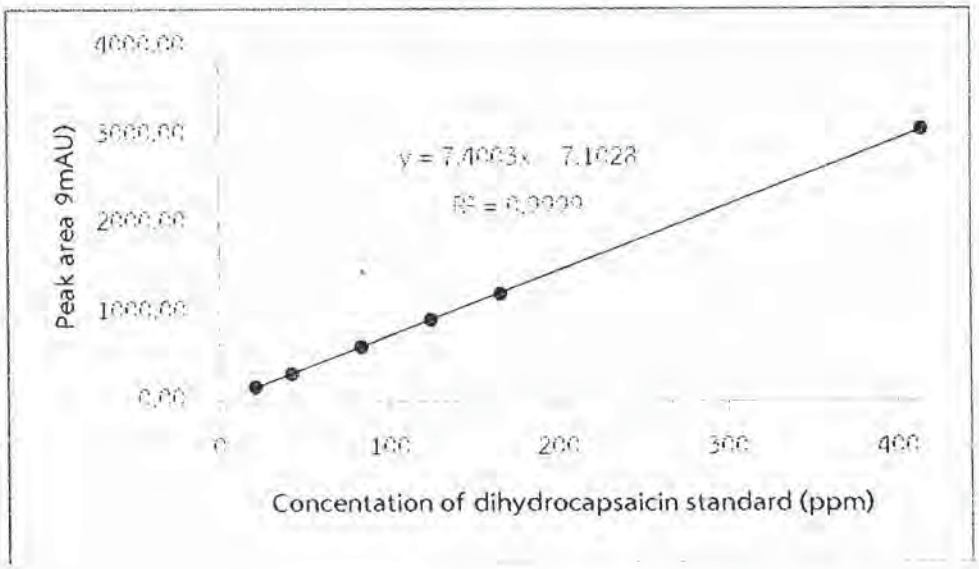
ภาพ 3. 2 กราฟสารละมาตรฐาน capsaicin ที่ความเข้มข้น 25, 50, 100, 150, 200 และ 500 ppm



ภาพ 3. 3 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน dihydrocapsaicin ความเข้มข้น 165.6 ppm

ตาราง 3.2 ค่าพื้นที่ใต้กราฟ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ของแต่ละความเข้มข้นในช่วงความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน dihydrocapsaicin 20.7, 41.4, 82.8, 124.2, 165.6 และ 414 ppm

conc.	peak area (mAU)			average	SD.	%RSD
20.7	165.34	165.546	165.285	165.39	0.14	0.1
41.4	317.998	319.604	318.465	318.69	0.83	0.3
82.8	614.337	614.143	612.48	613.65	1.02	0.2
124.2	934.822	934.095	932.317	933.74	1.29	0.1
165.6	1217.39	1213.47	1217.7	1216.19	2.36	0.2
414	3086.69	3078.18	3061.95	3075.61	12.57	0.4



ภาพ 3. 4 กราฟสารละมาตรฐาน dihydrocapsaicin 20.7, 41.4, 82.8, 124.2, 165.6 และ 414 ppm

การหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD) และค่าขีดจำกัดการวิเคราะห์ (Limit of Quantitation, LOQ)

การหาค่า LOD และ LOQ ด้วยวิธีของ **Miller** [41] ซึ่งคำนวณได้จากกราฟสารละลายมาตรฐาน capsaicin ความเข้มข้น 25, 50, 100, 150, 200 และ 500 ppm และกราฟสารละลายมาตรฐาน dihydrocapsaicin ความเข้มข้น 20.7, 41.4, 82.8, 124.2, 165.6 และ 414 ppm ดังแสดงกราฟความสัมพันธ์ในภาพ 3.2 และ 3.4 ตาราง 3.1 และ 3.2 ตามลำดับ

จากการทดลองได้ค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) และค่าขีดจำกัดการวิเคราะห์ (LOQ) ของการวิเคราะห์ capsaicin มีค่าเท่ากับ 7.7 และ 25.7 ppm สำหรับค่าการวิเคราะห์ dihydrocapsaicin มีค่าเท่ากับ 4.3 และ 14.2 ppm ตามลำดับ (ดังแสดงในภาคผนวก ข)

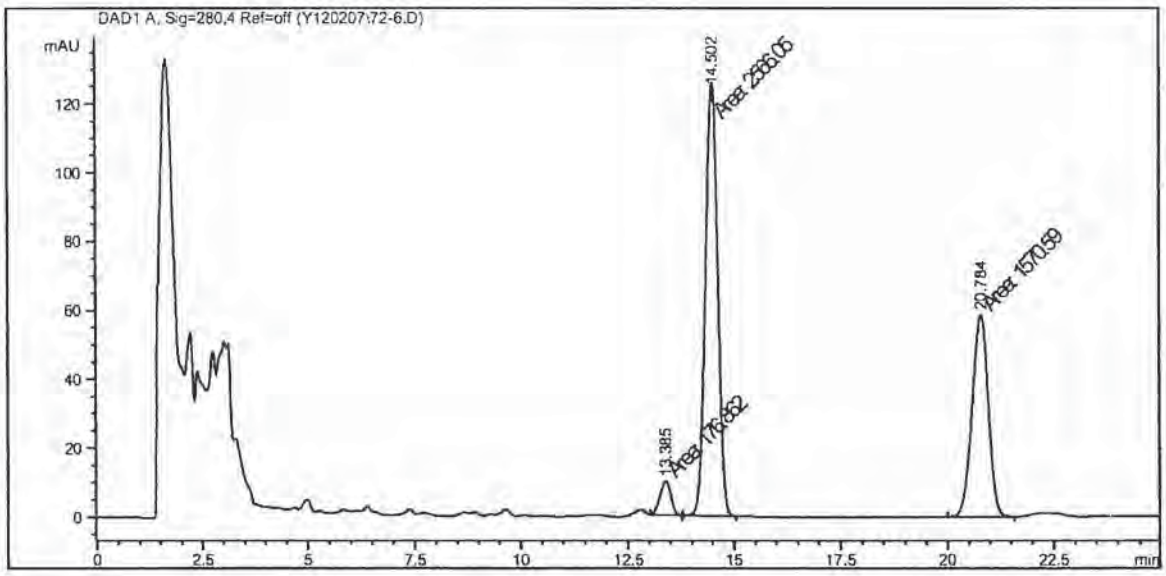
[41] Miller, J. N., & Miller, J. C. (2000). Statistics and chemometrics for analytical chemistry (4th ed.). Harrow, U.K.: Pearson Education/Prentice Hall.

การเตรียมสารตัวอย่างในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

ชั่งพริกตัวอย่างที่ผ่านการอบจนแห้งและบดละเอียดน้ำหนัก 1.0 กรัม ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร สกัดสารจากพริกด้วย absolute ethanol ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร กวนสารละลายอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ในระบบปิด ตั้งทิ้งไว้ให้สารตัวอย่างตกตะกอนเป็นเวลา 2 นาที กรองตัวอย่างส่วนใสด้วยตัวกรองขนาด 0.45 μm นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC โดยใช้ mobile phase เป็น acetonitrile : water : acetic acid (500:500:1, v/v/v) ที่มีอัตราการไหลของ mobile phase 1.2 mL/min ตามลำดับ

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการวิเคราะห์สารในกลุ่ม capsaicinoids ในตัวอย่างพริกที่ปลูกในประเทศไทย ได้ผลการทดลองแสดงในภาพ 3.5 และตาราง 3.3



ภาพ 3. 5 โครมาโทรแกรมของสารตัวอย่างในการวิเคราะห์หาปริมาณ capsaicinoids ในพริก

ตาราง 3.3 ปริมาณ capsaicin และ dihydrocapsaicin ในตัวอย่างพริกที่ปลูกในประเทศไทย

No.	Plot no.	Assesion no.	Capsaicin (mg/100g)	Dihydrocapsaicin (mg/100g)
1	1	CA074	74.7 ± 2.5	80.6 ± 2.7
2	2	CA078	218.9 ± 3.8	154.4 ± 1.1
3	3	CA084	90.3[a] ± 0.8	83.5[a] ± 0.2
4	4	CA787	105.1 ± 0.5	148.3 ± 0.6
5	5	CA849	78.4 ± 3.7	99.5 ± 3.5
6	6	CA957	57.7 ± 0.3	49.2 ± 0.2
7	8	CA1034	9.5[b] ± 0.2	14.5[a] ± 0.1
8	10	CA1113	74.4 ± 3.5	39.8 ± 1.5
9	12	CA1281	54.2 ± 1.0	105.4 ± 2.0
10	13	CA1296	28.3 ± 1.1	38.0 ± 0.8
11	14	CA1444	66.9 ± 2.7	112.9 ± 4.7
12	17	CA1449	14.5[a,b] ± 0.2	8.1[a,b] ± 0.1
13	24	CA1536	88.4 ± 3.4	80.9 ± 3.1
14	25	CA1537	92.2 ± 1.9	122.5 ± 2.1
15	27	CA1631	N.D.	N.D.
16	28	CA1637	137.4 ± 1.5	212.9 ± 1.7
17	29	CA1718	114.1[a] ± 2.6	82.1[a] ± 1.9
18	31	CA2106	82.1 ± 3.3	66.2 ± 3.0
19	33	CA969	6.9[a,b] ± 0.2	12.7[b] ± 0.8
20	34	CA1029	132.6 ± 1.8	66.6 ± 0.8
21	36	CA1075	65.6 ± 2.0	82.4 ± 2.2
22	37	CA1098	9.0[a,b] ± 0.2	6.5[b] ± 0.3
23	38	CA1472	40.1 ± 0.9	47.9 ± 1.2
24	40	CA1532	26.2 ± 0.4	39.6 ± 0.6
25	43	CA1541	21.2[b] ± 0.4	31.2 ± 0.4
26	45	CA1549	11.6[a,b] ± 0.4	9.5[a,b] ± 0.3
27	46	CA1551	71.1[a] ± 0.3	39.9[a] ± 0.5
28	47	CA1566	58.0 ± 2.4	62.2 ± 1.9
29	49	CA1574	41.2 ± 0.9	95.2 ± 2.2

ตาราง 3.4 ปริมาณ capsaicin และ dihydrocapsaicin ในตัวอย่างพริกที่ปลูกในประเทศไทย (ต่อ)

No.	Plot no.	Assesion no.	Capsaicin (mg/100g)	Dihydrocapsaicin (mg/100g)
30	50	CA365	13.1[b] ± 1.1	16.9[a] ± 0.7
31	51	CA1187	65.7[a] ± 0.5	50.6[a] ± 0.6
32	52	CA1188	35.2 ± 0.5	30.6 ± 0.3
33	53	CA857	202.8 ± 4.0	211.4 ± 4.3
34	54	CA939	23.6[a] ± 0.1	12.3[a] ± 0.4
35	62	CA1106	48.8[a] ± 0.1	34.2[a] ± 0.1
36	64	CA1195	N.D.	N.D.
37	65	CA1221	N.D.	N.D.
38	66	CA1239	N.D.	N.D.
39	71	CA1442	N.D.	N.D.
40	73	CA1450	7.1[a,c] ± 0.3	17.1[a] ± 0.1
41	74	CA1497-A	N.D.	N.D.
42	80	CA1702	N.D.	N.D.
43	84	CA1734	-4.2[c] ± 0.1	2.4[c] ± 0.1
44	86	CA1184	N.D.	N.D.
45	87	CA682	N.D.	N.D.
46	93	CA1665	38.3 ± 0.1	38.0 ± 0.1
47	97	CA1838	N.D.	N.D.
48	98	CA741	435.6 ± 7.8	133.9 ± 2.0
49	99	CA747	8.8[a,b] ± 0.5	5.4[b] ± 0.2
50	100	CA748	75.5 ± 1.6	27.0 ± 0.8
51	101	CA749	22.7 ± 1.1	24.6 ± 0.9
52	103	CA924-A	11.1[a,b] ± 0.1	12.1[b] ± 0.6
53	107	CA1489	8.0[a,b] ± 0.3	72.5[a] ± 2.6
54	118	CA1531	N.D.	N.D.
55	119	CA1614	48.4 ± 0.8	62.0 ± 0.8
56	121	CA1664	46.3 ± 1.5	37.2 ± 0.9
57	122	CA1683	13.7[a,b] ± 0.3	7.7[a,b] ± 0.1
58	127	CA860	144.8 ± 4.1	160.6 ± 4.2

ตาราง 3.4 ปริมาณ capsaicin และ dihydrocapsaicin ในตัวอย่างพริกที่ปลูกในประเทศไทย (ต่อ)

No.	Plot no.	Assesion no.	Capsaicin (mg/100g)	Dihydrocapsaicin (mg/100g)
59	129	CA1181	163.8 ± 1.4	290.5 ± 2.3
60	136	CA1046	70.9 ± 1.2	64.6 ± 0.8
61	137	CA1095	28.0[a] ± 0.6	33.8[a] ± 0.3
62	138	CA1098	17.1 ± 0.8	13.6 ± 0.3
63	139	จักพรรดิ TB-103	58.9 ± 1.3	53.5 ± 1.3
64	141	SR09-013	66.6 ± 0.3	64.8 ± 0.4
65	142	SR09-014	21.2[a] ± 0.4	16.1[a] ± 0.3
66	143	SR09-015	143.9 ± 4.8	102.4 ± 3.2
67	144	SR09-021	54.4 ± 0.6	27.0 ± 0.3
68	145	SR09-022	135.0 ± 4.7	66.7 ± 2.1
69	146	SR09-179	32.6[a] ± 1.5	15.5[a] ± 0.5
70	148	ปากคลอง 192	26.8a ± 0.6	38.3a ± 1.1
71	151	Nocera	-5.5[c] ± 0.0	N.D.
72	153	Bird pepper	283.1 ± 7.5	194.7 ± 4.4
73	154	SR09-016	284.5[a] ± 1.1	274.9[a] ± 3.7
74	155	SR09-010	183.2[a] ± 0.9	135.7[a] ± 0.8
75	156	SR09-012	293.4 ± 12.1	193.8 ± 7.7
76	157	SR09-017	355.3 ± 4.2	293.2 ± 3.7
77	158	F1 YOKSAWAN	15.7[b] ± 0.3	11.6[b] ± 0.2
78	159	F1 Jom Thong 2	14.4[b] ± 0.3	14.5 ± 0.1
79	160	F1 360918	35.3 ± 1.1	20.7 ± 0.4
80	161	F1 361004	267.2 ± 12.3	167.2 ± 7.9
81	162	F1 361014	196.1 ± 2.5	125.8 ± 1.4
82	163	F1 361015	225.7[a] ± 2.2	163.8[a] ± 2.1
83	166	CA446	209.8 ± 5.8	184.5 ± 5.6
84	167	CA1131	303.7 ± 2.9	232.8 ± 1.8
85	168	CA1258	455.4 ± 2.6	272.8 ± 1.4
86	170	CA1302	108.3 ± 3.9	91.7 ± 3.0
87	182	CA1345	355.0 ± 6.7	156.3 ± 2.8

ตาราง 3.4 ปริมาณ capsaicin และ dihydrocapsaicin ในตัวอย่างพริกที่ปลูกในประเทศไทย (ต่อ)

No.	Plot no.	Assesion no.	Capsaicin (mg/100g)	Dihydrocapsaicin (mg/100g)
88	183	CA1346	328.2[a] ± 10.3	193.8[a] ± 5.3
89	185	CA1348	383.5 ± 13.3	199.8 ± 7.3
90	186	CA1349	367.2[a] ± 9.0	207.0[a] ± 4.9
91	189	CA1354	399.9 ± 3.1	202.8 ± 1.8
92	190	CA1355	1.04[c] ± 0.3	295.0 ± 2.4
93	191	CA1356	529.9[a] ± 5.8	269.5[a] ± 4.4
94	193	CA1361	718.9 ± 14.6	334.9 ± 6.4
95	194	CA1362	401.4[a] ± 2.2	233.3[a] ± 0.6
96	195	CA1364	593.1 ± 8.5	298.2 ± 5.3
97	196	CA1365	646.3[a] ± 14.1	320.9[a] ± 6.4
98	197	CA1366	676.6 ± 28.6	288.9 ± 13.4
99	198	CA1368	483.0 ± 17.1	251.7 ± 8.9
100	200	CA1393	404.9 ± 13.0	346.7 ± 9.6
101	201	CA1399	500.3 ± 8.3	237.3 ± 4.4
102	205	CA1470	621.7 ± 7.6	351.3 ± 4.3
103	206	CA1476	527.6 ± 14.6	237.1 ± 6.5
104	207	CA1477	262.0[a] ± 3.8	152.2[a] ± 0.9
105	208	CA1481	191.8[a] ± 3.7	154.3[a] ± 2.9
106	209	CA1486	553.6 ± 10.7	333.3 ± 6.3
107	211	CA1499	476.9 ± 5.1	467.4 ± 4.8
108	212	CA1518	189.1 ± 2.4	102.2 ± 1.4
109	213	CA1538	404.3 ± 3.0	197.7 ± 2.3
110	214	CA1594	299.7 ± 8.2	111.9 ± 2.4
111	215	CA1715	583.8 ± 13.6	476.3 ± 11.5
112	216	CA1814	1060.8 ± 40.5	481.1 ± 18.4
113	217	CA1857	484.1 ± 4.3	288.6 ± 2.4
114	218	เทวี 60	484.5 ± 4.2	355.2 ± 2.7
115	220	อ้มผาง	543.8 ± 18.5	272.2 ± 8.2
116	221	SR09-181	586.4 ± 24.6	259.9 ± 10.7

ตาราง 3.4 ปริมาณ capsaicin และ dihydrocapsaicin ในตัวอย่างพริกที่ปลูกในประเทศไทย (ต่อ)

No.	Plot no.	Assesion no.	Capsaicin (mg/100g)	Dihydrocapsaicin (mg/100g)
117	222	CA215	332.6 ± 3.3	329.2 ± 2.4
118	223	CA218	230.5 ± 4.8	173.3 ± 4.2
119	224	CA227	328.9 ± 9.4	240.1 ± 5.9
120	225	CA398	234.0 ± 7.7	195.7 ± 5.4
121	226	CA758	269.5 ± 3.2	97.9 ± 1.7
122	229	CA945	57.4[a] ± 0.2	65.9[a] ± 0.3
123	230	CA983	152.5 ± 3.6	88.7 ± 1.3
124	231	CA1001	252.0 ± 10.7	161.0 ± 5.7
125	232	CA1003	380.4 ± 11.6	212.9 ± 6.4
126	233	CA1110	10.5[a,b] ± 0.4	8.5[a,b] ± 0.7
127	234	CA1153	96.0 ± 3.4	92.4 ± 2.9
128	235	CA1151	33.8 ± 0.7	57.9 ± 1.6
129	236	SR09-006	204.4 ± 4.9	105.3 ± 2.4
130	237	CA1163-A	33.7 ± 0.8	37.8 ± 0.5
131	238	CA1165	160.0[a] ± 5.3	151.0[a] ± 4.4
132	239	CA1167	162.1 ± 3.0	153.2 ± 3.0
133	240	CA1168	115.5[a] ± 5.0	89.0[a] ± 3.1
134	241	CA1172	191.0 ± 4.6	195.7 ± 5.0
135	243	CA1283	253.2 ± 4.2	176.5 ± 3.3
136	244	CA367	192.5 ± 3.3	379.0 ± 7.7
137	245	CA1290	367.9 ± 4.9	252.8 ± 4.2
138	246	CA1338	271.2[a] ± 9.1	268.2[a] ± 9.3
139	247	CA1339	162.2 ± 3.1	170.5 ± 3.4
140	248	CA1341	56.3[a] ± 2.1	81.1[a] ± 3.0
141	249	CA1360	236.3 ± 4.5	178.3 ± 2.9
142	250	CA1363	346.8 ± 0.7	283.1 ± 1.1
143	251	CA1369	427.8[a] ± 2.2	282.9[a] ± 0.5
144	252	CA1378	373.6 ± 8.2	274.5 ± 6.0
145	253	CA1379	268.0 ± 11.7	209.4 ± 9.3

ตาราง 3.4 ปริมาณ capsaicin และ dihydrocapsaicin ในตัวอย่างพริกที่ปลูกในประเทศไทย (ต่อ)

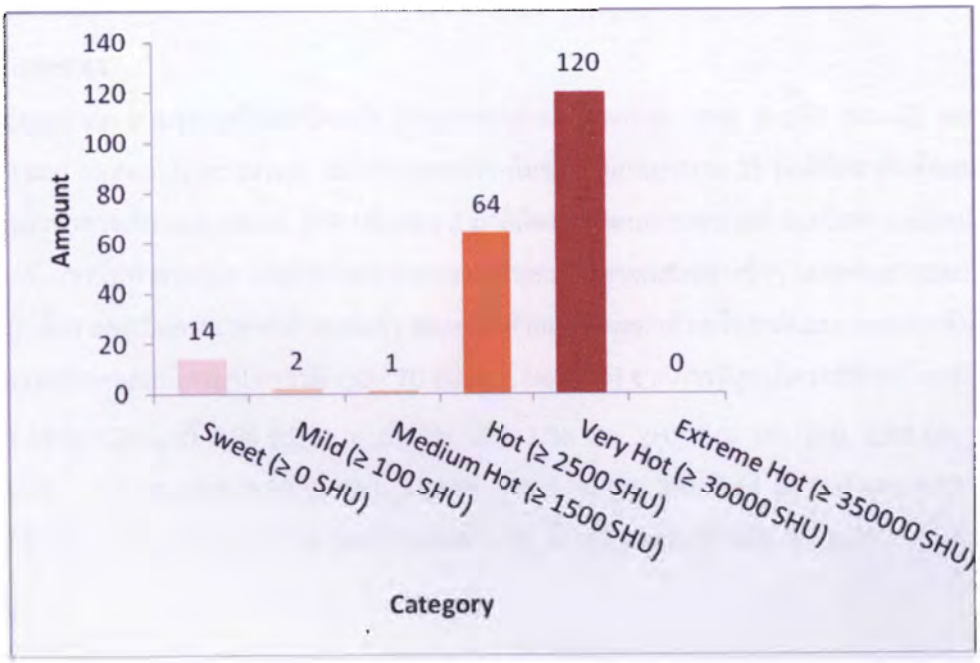
No.	Plot no.	Assesion no.	Capsaicin (mg/100g)	Dihydrocapsaicin (mg/100g)
146	255	CA1381-ผลขาว	332.0 ± 12.4	243.6 ± 8.7
147	256	CA1386	198.0[a] ± 1.6	166.3[a] ± 0.4
148	257	CA1387	336.7 ± 4.2	201.0 ± 1.8
149	258	CA1389	144.7 ± 4.9	136.5 ± 4.7
150	260	CA1414	187.1[a] ± 3.7	144.8[a] ± 1.5
151	261	CA1415	236.6 ± 1.2	199.8 ± 1.9
152	262	CA1416	166.9 ± 2.8	112.0 ± 2.0
153	263	CA1417	144.1 ± 4.0	141.5 ± 3.8
154	264	CA1418	290.4 ± 10.8	235.4 ± 8.6
155	265	CA1420	284.2[a] ± 11.5	178.3[a] ± 6.1
156	266	CA1421	156.3[a] ± 3.1	116.0[a] ± 0.8
157	267	CA1424	240.8 ± 11.1	150.5 ± 7.3
158	269	CA1452	137.9 ± 4.4	160.7 ± 4.6
159	270	CA1458	125.5 ± 4.4	151.6 ± 3.4
160	271	CA1459	162.7[a] ± 1.8	211.4[a] ± 2.6
161	272	CA1463	149.1 ± 3.9	163.5 ± 4.0
162	273	CA1465	120.5 ± 3.4	111.2 ± 2.0
163	275	CA1471	459.4 ± 20.3	468.1 ± 19.2
164	276	CA1475	161.6 ± 8.1	168.1 ± 7.5
165	277	CA1483	170.4[a] ± 2.7	129.6[a] ± 1.4
166	278	CA1571	138.8 ± 3.7	86.8 ± 3.0
167	279	CA1753	48.4 ± 2.3	48.9 ± 1.7
168	280	F12	308.8 ± 14.4	171.7 ± 8.1
169	281	F40	246.9 ± 5.7	210.9 ± 4.7
170	282	F85	406.4[a] ± 7.2	210.3 ± 10.8
171	283	F91	357.5 ± 12.7	216.9 ± 8.0
172	284	F112	241.6 ± 11.1	178.9 ± 7.3
173	285	F133	221.3 ± 5.1	172.4 ± 3.2
174	286	F139	247.2[a] ± 3.1	155.1[a] ± 1.2

ตาราง 3.4 ปริมาณ capsaicin และ dihydrocapsaicin ในตัวอย่างพริกที่ปลูกในประเทศไทย (ต่อ)

No.	Plot no.	Assesion no.	Capsaicin (mg/100g)	Dihydrocapsaicin (mg/100g)
175	287	F150	192.1 ± 9.4	184.6 ± 9.0
176	292	Superhot	335.1 ± 8.1	177.1 ± 4.1
177	293	จินดา	178.7[a] ± 4.4	131.2[a] ± 1.7
178	295	SR08-0142	176.8 ± 4.0	125.8 ± 2.0
179	296	SR08-0143	230.4[a] ± 12.0	178.0[a] ± 7.9
180	297	SR09-043	275.1 ± 3.4	193.2 ± 0.9
181	298	CA746	69.0 ± 3.0	34.5 ± 1.2
182	299	CA224	149.9 ± 2.7	158.2 ± 1.3
183	300	F1 Yok siam	3.3[c] ± 0.8	6.0[a,b] ± 0.1
184	301	CA1423	92.8[a] ± 3.0	90.2[a] ± 2.4
185	304	CA1337	614.4 ± 13.5	385.7 ± 9.5
186	306	CA1151	N.D.	N.D.
187	307	CA1247	N.D.	N.D.
188	308	CA1373	67.6[a] ± 2.3	36.8[a] ± 1.2
189	309	CA919	80.6 ± 1.2	37.4 ± 0.4
190	311	CA1563	65.9[a] ± 0.7	46.9[a] ± 0.2
191	312	หัวสีทน4PEP001	213.8[a] ± 7.7	139.0[a] ± 4.7
192	313	พริกเดือยไก่	360.1[a] ± 1.5	276.0[a] ± 2.1
193	314	CA1152	113.3 ± 1.3	101.3 ± 3.6
194	315	พริกมันดำ	128.7 ± 3.9	50.8 ± 1.5
195	316	SR09-018	N.D.	N.D.
196	318	F1 supersab	95.6 ± 3.9	139.4 ± 4.6
197	320	CA1297	32.9 ± 0.6	24.2 ± 0.5
198	321	CA1340	225.8 ± 6.2	135.6 ± 3.8
199	322	CA1498	22.7 ± 0.4	41.5 ± 0.4
200	323	CA1229	N.D.	N.D.
201	324	CA1385	106.9[a] ± 0.0	97.9[a] ± 0.1

ค่าที่แสดง คือ เฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3), [a] = ค่าเฉลี่ยตัวอย่าง (n=2) [b] = below the Limit of Quantitation (LOQ) ของ capsaicin และ dihydrocapsaicin, [c] = below the Limit of Detection (LOD) ของ capsaicin และ dihydrocapsaicin

จากตารางผลการวิเคราะห์หาปริมาณ capsaicin และ dihydrocapsaicin ในพริกที่ปลูกในประเทศไทย พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มของพริกที่ทำการวิเคราะห์พริกตามหลักการของ Scoville Heat Unit โดยแบ่งเป็นทั้งหมด 5 กลุ่มคือ พริกที่ไม่เผ็ดหรือพริกหวาน มีระดับค่า SHU = 0-100 โดยในกลุ่มพริกที่ดำเนินการศึกษานั้นมีพริกที่อยู่ในกลุ่มนี้ทั้งหมด 14 ชนิด โดยส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มของพริกหวาน พริกหยวก และพริกประดับเป็นส่วนใหญ่ กลุ่มต่อมาคือพริกที่มีความเผ็ดน้อย มีระดับค่า SHU = 100-1500 ทั้งนี้พบเพียง 2 ชนิดคือ พริกหยวกที่มาจากประเทศไต้หวัน CA1239 และพริกหยวกที่มาจากประเทศเกาหลี CA1734 กลุ่มที่สามคือ พริกที่มีความเผ็ดปานกลาง มีระดับค่า SHU = 1500-2500 พบเพียง 1 ชนิด คือพริกชี้ฟ้าหนุ่มที่มาจากประเทศจีน CA1450 มีค่า SHU = 1765 (capsaicinoids = 0.0010 mg/100g) ทั้งนี้พริก CA1450 น่าที่จะมีการวิเคราะห์ว่ามีปริมาณของสารในกลุ่ม capsinoids หรือไม่ ทั้งนี้การที่พริกมีค่า SUH ที่น้อยอาจเป็นหนึ่งตัวบ่งชี้ที่ดีว่าอาจจะพบสารในกลุ่มดังกล่าว กลุ่มที่สี่คือกลุ่มที่มีความเผ็ด มีระดับค่า SHU = 2500-30,000 ทั้งนี้มีทั้งหมด 64 ชนิด กลุ่มที่ห้าคือกลุ่มที่มีความเผ็ดมาก มีระดับค่า SHU=30,000-350,000 มีทั้งหมด 120 ชนิดและพบว่า CA1814 มีปริมาณ capsaicin และ dihydrocapsaicin มากที่สุด เท่ากับ 1060.8±40.5 mg/100 g และ 481.14±18.40 mg/100g ของพริกแห้ง (ภาคผนวก ข)



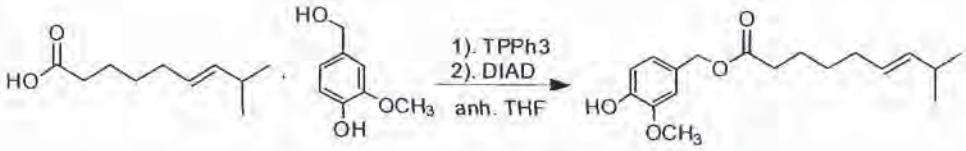
ภาพ 3. 6 การจัดกลุ่มพริกในการศึกษาตาม SHU scale

3.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารในกลุ่ม capsiate ด้วยเทคนิค HPLC

การทดลองในขั้นตอนนี้จะเป็นการสังเคราะห์สารมาตรฐาน และการวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเทคนิค HPLC ซึ่งมีกระบวนการทดลอง ดังต่อไปนี้

การสังเคราะห์สาร capsiate เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐาน

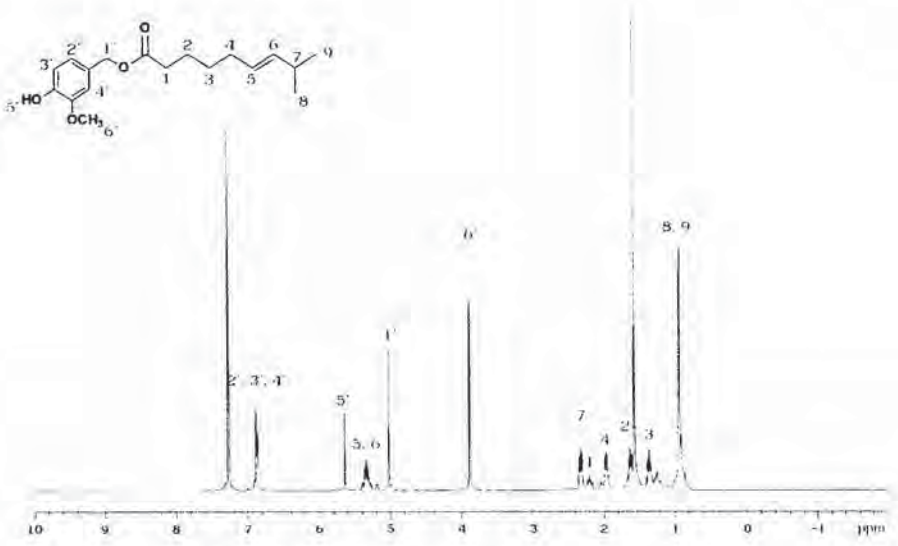
capsiate เป็นสารที่พบในพริกไม่เผ็ดและมีสมบัติที่เหมือนกับ capsaicin แต่ไม่ให้ความเผ็ดเมื่อโดนร่างกาย ทั้งนี้พบมากในพริก CH-19 sweet แต่มีความไม่คงตัว ดังนั้นในการศึกษาเบื้องต้นต้องมีการสังเคราะห์สารในกลุ่มนี้เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์ต่อไป สำหรับแนวทางการสังเคราะห์เบื้องต้น เป็นไปตามภาพ 3.7 คือ fatty acid จะดำเนินการเกิดปฏิกริยา primary alcohol แบบเฉพาะเจาะจง



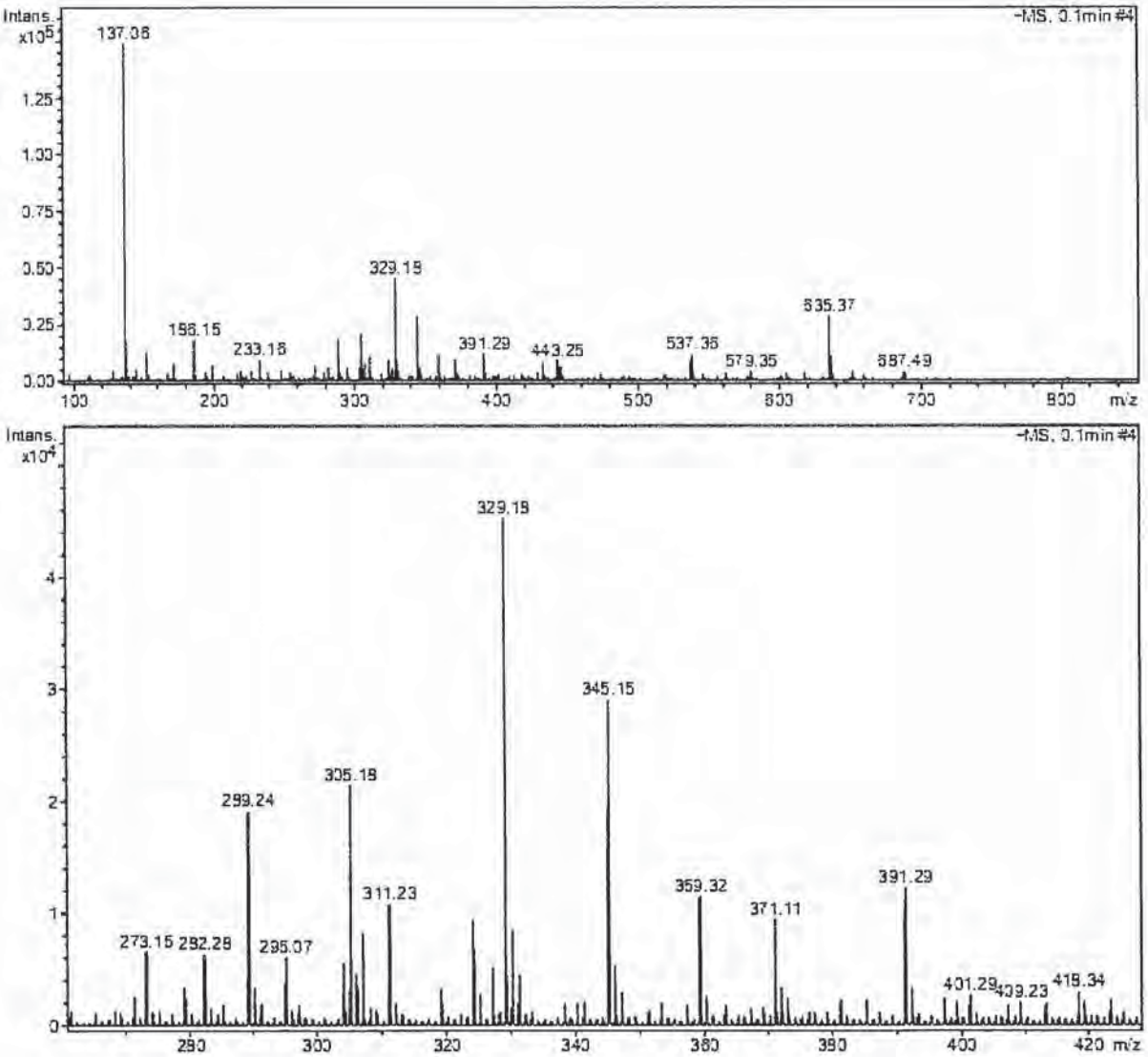
ภาพ 3. 7 แนวทางการสังเคราะห์ capsiate

วิธีการทดลอง

การสังเคราะห์ capsiate สามารถเตรียมได้โดยนำ *(E)*-8-methyl-6-nonenoic acid (0.176 mmol), vanillyl alcohol (0.212 mmol) และ triphenylphosphine (0.353 mmol) ลงในขวดก้นกลมขนาด 25 มิลลิลิตร ที่แห้งและสะอาดภายใต้สภาวะ N_2 จากนั้นทำการเติม anhydrous THF ปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วคนสารละลายด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า ที่ 0°C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการหยด DIAD (0.353 mmol) ลงในสารละลายผสมอย่างช้าๆ และคนสารละลายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง และเมื่อครบเวลาที่กำหนดแล้ว ระเหยตัวทำละลายออกด้วเครื่องกลั่นแบบลดความดัน จากนั้นทำการแยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี (30 : 70 EtOAc : Hexane) จากการพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีด้วย NMR มีค่า ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0.96 (d, *J*1 = 6.8 Hz, 2H), 1.38 (m, 2H), 1.62 (m, 2H), 1.98 (m, 2H), 2.21 (m, 1H), 2.30 (t, *J*1 = 7.6 Hz, 2H), 3.90 (s, 1H), 5.03 (s, 2H), 5.36 (m, 2H), 5.64 (s, 1H) และ 6.82 (m, 3H) ppm แสดงในภาพ 3.8 และ mass spectroscopy พบว่า แสดงค่า m/z ที่ 329 (capsiate 306 + Na 23 m/z) แสดงในภาพ 3.9



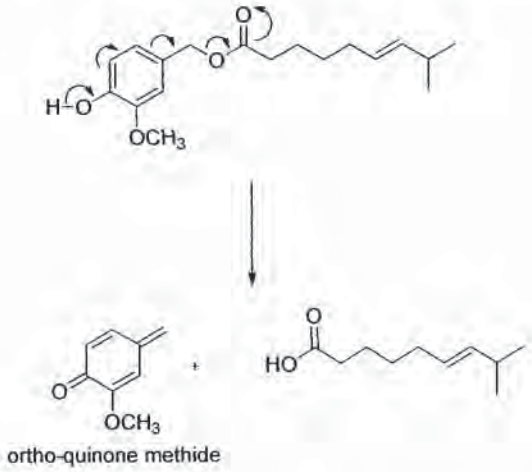
ภาพ 3. 8 ^{1}H NMR spectrum ของ (E)-capsiate



ภาพ 3. 9 Mass spectrum ของ capsiate

ผลการทดลอง

จากผลการทดลองการสังเคราะห์ capsiate เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณในตัวอย่างพริกที่ปลูกในประเทศไทย พบว่า การพิสูจน์โครงสร้างด้วยเทคนิค 1H NMR ยืนยันได้ว่าสามารถสังเคราะห์ capsiate ได้ และเมื่อนำยืนยันด้วยเทคนิค mass spectroscopy พบ m/z ของ capsiate ที่ 329 m/z (capsiate 306 m/z + Na 23 m/z) จากผลของ mass spectrum ที่ได้ พบว่า สาร capsiate ที่สังเคราะห์ขึ้นได้เกิดการเสียสภาพได้ง่ายใน protic หรือ polar solvent โดยการเหนี่ยวนำของ hydroxy group ที่ตำแหน่ง para [42] ในส่วนของวงเบนซีนของ capsinoids ทำให้เกิดการเสียสภาพของสารเกิดการสลายตัวให้สารตั้งต้นกลับคืนมา ทั้งนี้กลไกในการเกิดการสลายตัวแสดงดังในภาพ 3.10.



ภาพ 3. 10 การเกิดการสลายตัวของ capsiate ผ่าน ortho-quinone methide

[75] US patent 2007/0020738 A1 Amino et al "Production method of capsinoids by dehydrating condensation, stabilizing method of capsinoids and capsinoids composition" 2007

3.2.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณสารในกลุ่ม capsiate ด้วยเทคนิค HPLC

เนื่องจากสาร capsiate นั้นมีความไม่เสถียรใน protic polar solvent ด้วยเหตุนี้ ในการวิเคราะห์หาปริมาณสาร capsiate ร่วมกับวิธีการวิเคราะห์สารกลุ่ม capsaicinoid จึงไม่สามารถทำการวิเคราะห์พร้อมกันได้ เนื่องจากในขั้นตอนการสกัดสารตัวอย่างในการวิเคราะห์ capsaicinoid นั้นใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ซึ่งจะทำให้สาร capsiate ที่ต้องการที่จะวิเคราะห์เกิดการเสียสภาพได้ ดังนั้นขั้นตอนการหาสภาวะที่เหมาะสมในการทำสารมาตรฐาน capsiate ให้ไม่เกิดการเสียภาพจึงยังไม่สามารถหาสภาวะที่ดีได้ ทั้งนี้มีข้อสังเกตคือ capsiate มีความเสถียรในสารละลาย ethyl acetate แต่ตัวทำละลายชนิดอื่นๆ เกิดการสลายตัวภายในเวลาอันสั้น ทำให้การวิเคราะห์หาปริมาณของ capsiate ในการศึกษานี้ไม่เป็นไปตามที่วางแผน

3.3 วิเคราะห์หาปริมาณสาร capsanthin และ beta-carotene ในพริกกลุ่มตัวอย่างด้วยเทคนิค HPLC

สาร capsanthin และ beta-carotene เป็นรงควัตถุที่พบได้มากในพริก และมีประโยชน์ทางการแพทย์ โดยทั้งสองตัวมีสมบัติที่เป็น antioxidant ที่ดี ดังนั้นในการศึกษานี้ จึงให้ความสนใจสารให้สีกลุ่มนี้ในพริกมากกว่าสารให้สีกลุ่มอื่นๆ สำหรับการทดลองหาปริมาณและการหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณของสาร capsanthin และ beta-carotene จะเป็นการวิเคราะห์พร้อมกันด้วยเทคนิค HPLC เพื่อเป็นการลดขั้นตอนและประหยัด ทั้งนี้ในการศึกษาแบ่งได้ดังนี้คือ การสกัดและแยก capsanthin จากพริกเพื่อใช้เป็นสารมาตราฐาน และการหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณ capsanthin และ beta-carotene

3.3.1 การสกัดและแยกสาร capsanthin จาก *Capsicum Fructescens L.*

ในการทดลองนี้ทางกลุ่มวิจัยดำเนินการสกัด และแยกบริสุทธิ์สาร capsanthin ทั้งนี้เพราะเป็นสารที่พบมากในพริก และมีขั้นตอนการแยกที่สามารถดำเนินการได้ในห้องวิจัย ซึ่งเป็นวิธีที่ได้ปรับปรุงมาจากการแยกบริสุทธิ์สาร capsanthin ของ Raphael Ikan (Natural Product, 1992)

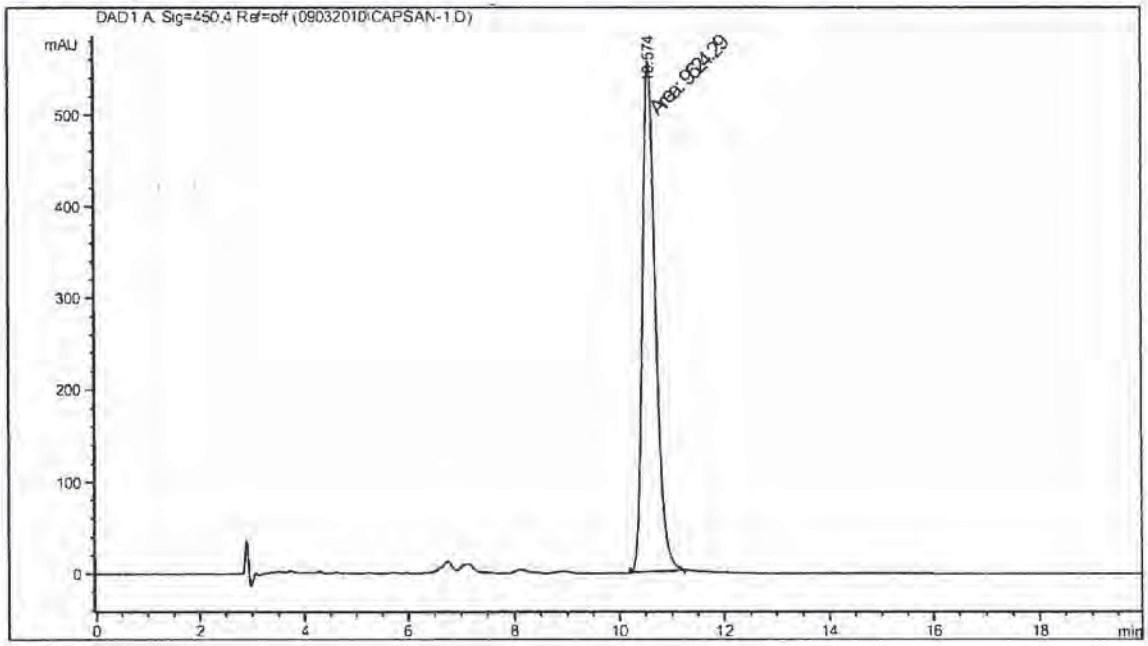
วิธีการทดลอง

ตากพริกและนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 °C จนแห้ง นำพริกแห้งที่ได้ไปปั่นให้ละเอียด แล้วชั่งพริกตัวอย่างจำนวน 100 g มาสกัดด้วย Petroleum ether 200 ml เป็นเวลา 4 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง กรองสารละลายที่ได้ด้วย Buchner funnel ล้างตะกอนด้วย Petroleum ether อีก 25 ml นำสารละลายสีแดงของชั้น Petroleum ether มาเจือจางด้วย Diethyl ether 3 เท่าของชั้น Petroleum ether ที่กรองได้ นำสารละลายที่ได้ไปทำ saponification โดยเติม 30% methanolic potassium hydroxide 100 ml แล้วทำการคนอย่างต่อเนื่องอีก 8 ชั่วโมง โดย Phytoxanthin อิสระจะละลายอยู่ในชั้นของ ether นำชั้นของ ether มาล้างด้วยน้ำ 3 ครั้ง แล้วกำจัดน้ำด้วย sodium sulfate ทำให้เข้มข้นด้วยการกลั่นแบบลดความดันจนเหลือปริมาตร 20 ml นำสารละลายที่ได้มาละลายด้วย Petroleum ether 60 ml แล้วตั้งทิ้งไว้ในที่เย็นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการกรองตะกอนของสาร capsanthin ที่ได้ แล้วนำตะกอนที่ได้นี้ไปทำการแยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค HPLC (semi preparative column) โดยใช้เครื่อง HPLC รุ่น Bionex ซึ่ง detector ที่ใช้เป็นแบบ diode array detector (DAD) ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร bandwidth 1 นาโนเมตร ใช้ column Sunfire C18 ขนาด 5 ไมครอน 10 x 150 มิลลิเมตร และ guard column Sunfile C18 ขนาด 5 ไมครอน ทำการแยกบริสุทธิ์แบบ gradient elution โดยใช้ mobile phase เป็น solvent A (น้ำ) และ solvent B (acetonitrile) เริ่มต้น gradient elution ที่ 30%A – 5%A (0-18 นาที) ตามด้วย isocratic elution ที่ 5%A เป็นเวลา 2 นาที จากนั้น gradient elution ต่อที่ 5%A – 0%A ในเวลา 5 นาที สุดท้าย isocratic elution ที่ 0%A เป็นเวลา 5 นาที flow rate คงที่ 10 มิลลิลิตร/นาที injection volume 250 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิห้อง นำแต่ละส่วนของสารที่แยกได้มาระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดันที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และนำมาระเหยตัวทำละลายออกจนหมดด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดันสุญญากาศสมรรถนะสูง (high vacuum) ที่อุณหภูมิห้อง เก็บสาร capsanthin ที่แยกบริสุทธิ์ได้นี้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ผลการทดลอง

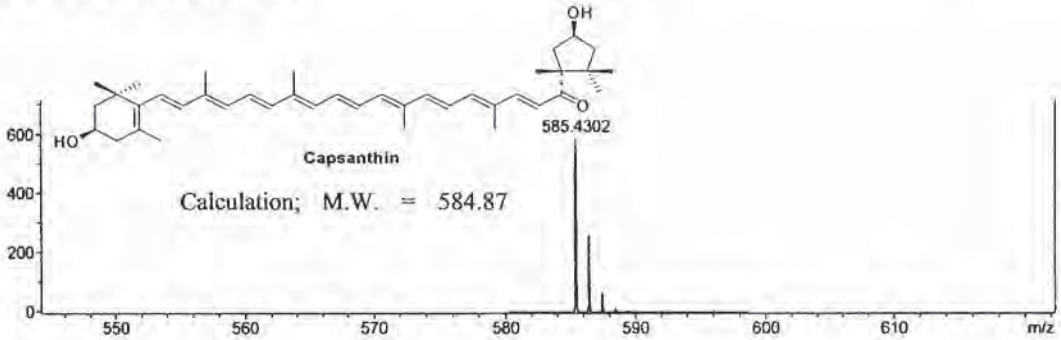
หลังการแยกบริสุทธิ์ได้ capsanthin มีลักษณะเป็นผลึกสีแดงเข้ม โดยเมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC รุ่น Agilent 1100 Series ซึ่ง detector ที่ใช้เป็นแบบ diode array detector (DAD) ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร bandwidth 4 นาโนเมตร ใช้ column VertiSep Bio C30 ขนาด 5 ไมครอน 4.6 x 250 มิลลิเมตร และ guard column VertiSep Bio C30 ขนาด 5 ไมครอน ทำการแยกบริสุทธิ์แบบ isocratic elution โดยใช้ mobile phase คือ Acetonitrile :

Isopropanol : Ethyl acetate (70 : 15 : 15) 0.1% TEA flow rate คงที่ 1.0 มิลลิลิตร/นาที injection volume 20 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งจากผลการวิเคราะห์ได้ HPLC chromatogram ของสาร capsanthin ที่มีความบริสุทธิ์สูง ปรากฏพีคของสารที่เวลา 10.57 นาที ดังภาพ 3.11



ภาพ 3. 1 HPLC chromatogram ของสาร capsanthin (หลังการแยกบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค HPLC) ในระบบ Mobile phase Acetonitrile : Isopropanol : Ethyl acetate (70 : 15 : 15) 0.1% TEA flow rate 1.0 มิลลิลิตร/นาที

ทั้งนี้สามารถยืนยันโครงสร้างสารจาก NMR และ Mass Spectroscopy จากการทดลองได้สาร capsanthin ประมาณ 0.02% ของน้ำหนักพริกแห้ง



ภาพ 3. 2 Mass spectrum ของสาร capsanthin หลังทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค HPLC (C-18 semi preparative column)

ภาพ 3. 3 ^{1}H-NMR spectrum ของสาร capsanthin (solvent $CDCl_3$)
หลังทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค HPLC

3.3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ capsanthin และ beta-carotene ในพริก

ในการทดลองนี้ประกอบด้วยการศึกษาวิธีการสกัดสารตัวอย่าง และระบบ mobile phase ที่ใช้ในการแยกสาร capsanthin และ beta-carotene โดยเทคนิค HPLC

วิธีการทดลอง

วิธีการสกัดสารตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองแบ่งเป็น 2 วิธี วิธีที่ 1 ใช้วิธีการสกัดแบบวิเคราะห์หาปริมาณ capsanthin และ วิธีที่ 2 ใช้วิธีการสกัดแบบวิเคราะห์ปริมาณ carotenoids ในพริก ดังต่อไปนี้

การสกัดสารตัวอย่างตามวิธีวิเคราะห์ capsanthin

นำตัวอย่างพริกที่อบแห้งที่ 55 °C และบดละเอียด 1 g ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 mL ทำการสกัดด้วย diethyl ether 10 mL ด้วยเครื่องกวนระบบแม่เหล็กเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เก็บสารลายส่วนใสไว้จากนั้นสกัดสารตัวอย่างด้วย methanol 15 mL เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เก็บสารละลายชั้น methanol รวมกับสารสกัดชั้น diethyl ether ที่สกัดได้ในตอนแรก เติมสารละลาย 10% potassium hydroxide ใน methanol จำนวน 10 mL ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นสกัดด้วย diethyl ether 15 mL โดยเติมสารละลายอิ่มตัว NaCl 3-5 mL (เกิดตะกอนขึ้นปริมาณมาก) จากนั้นเติมน้ำกลั่น15-20 mL ปล่อยให้สารละลายแยกชั้นกันอย่างสมบูรณ์ เก็บสารละลายชั้น diethyl ether และล้างด้วยน้ำกลั่น 20 mL แยกเก็บชั้น diethyl ether ระเหยตัวทำละลายออก และละลายใน acetone ในขวดปรับปริมาตรจนครบปริมาตร ทำการกรองด้วยตัวกรองขนาด 0.45 μm ก่อนวิเคราะห์ด้วย HPLC

การสกัดสารตัวอย่างตามวิธีวิเคราะห์ carotenoids

นำตัวอย่างพริกที่อบแห้งที่ 55 °C และบดละเอียด 1 g ลงในหลอด centrifuge ขนาด 50 mL ทำการสกัดด้วย Acetone ครั้งละ10 mL จำนวน 2 ครั้งๆละ 1 ชั่วโมง จนสารสกัดไม่มีสี และสกัดสารละลายผสมด้วย 20 mL diethyl ether และ 20 mL sodium chloride (10%) เก็บสารละลายชั้น diethyl ether ล้างด้วยสารละลาย anhydrous Na_2SO_4 (2%)

20 mL จากนั้นนำไปทำการ saponification ด้วยสารละลาย 10% potassium hydroxide ใน methanol จำนวน 10 mL ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกสารละลายผสมด้วยสารละลาย sodium chloride (10%) 20 mL ชั้นสารละลายอินทรีย์ล้างด้วยน้ำกลั่น 15 mL หลายๆครั้ง จนกระทั่งสารละลายเป็นกลาง และสกัดด้วยสารละลาย anhydrous Na_2SO_4 (2%) 20 mL จากนั้นระเหยชั้น diethyl ether ออก และละลายใน acetone จนครบปริมาตร 10 mL ทำการกรองด้วยตัวกรองขนาด 0.45 μm ก่อนวิเคราะห์ด้วย HPLC

ศึกษาระบบ mobile phase ที่ใช้

การศึกษาระบบที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ capsanthin และ beta-carotene นั้น จะทำการทดลองจากระบบ mobile phase ที่ในการวิเคราะห์สารแต่ละชนิดดังนี้

ระบบที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณ capsanthin

HPLC	: Agilent 1100 Series HPLC
Column	: VertiSep Bio C30 5 μm 4.6 x 250 mm
Detector	: DAD detector at 450 nm reference off bandwidth 4 nm
Column temperature	: 25 °C
Mobile phase	: Acetonitrile : Isopropanol : Ethyl acetate (70 : 15 : 15) 0.1% TEA
Flow rate	: 1 mL/min

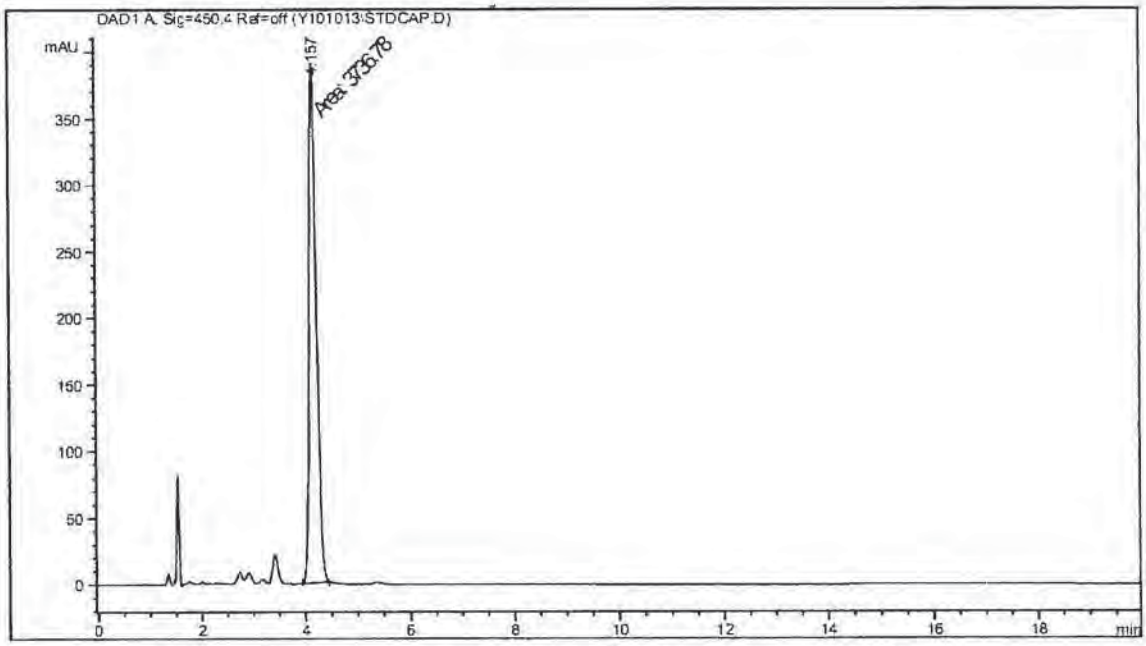
ระบบที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณ beta-carotene

HPLC	: Agilent 1100 Series HPLC
Column	: VertiSep Bio C30 5 μm 4.6 x 250 mm
Detector	: DAD detector at 450 nm reference off bandwidth 4 nm
Column temperature	: 25 °C
Mobile phase	: 20% MTBE:MeOH
Flow rate	: 2 mL/min

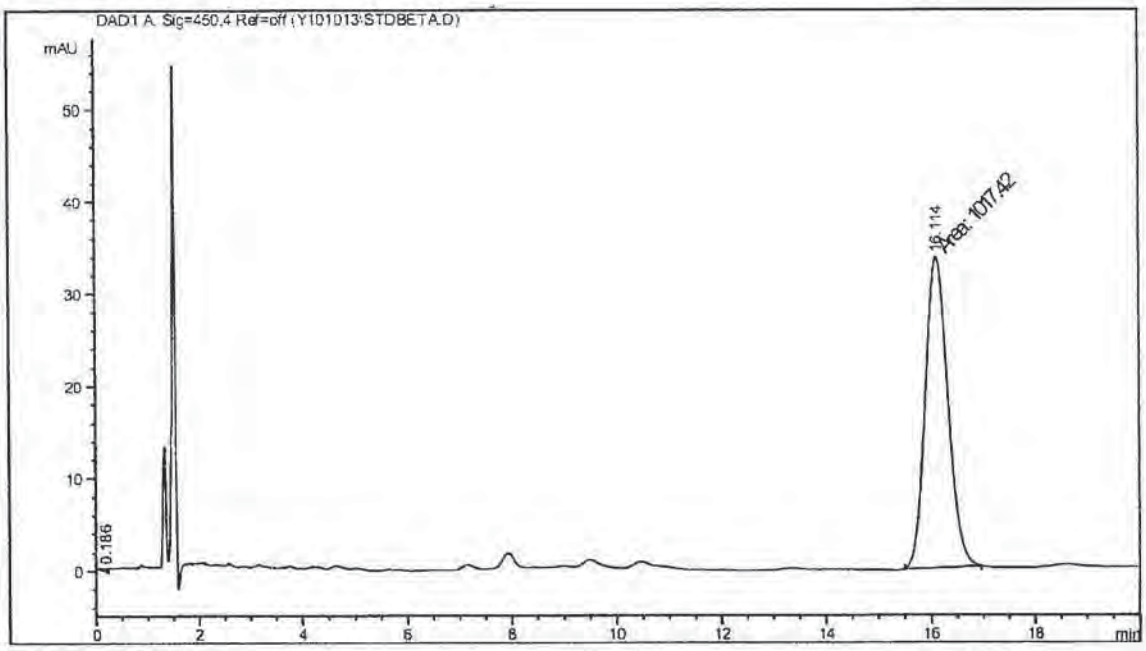
ผลการทดลอง

วิธีการสกัดสารตัวอย่าง

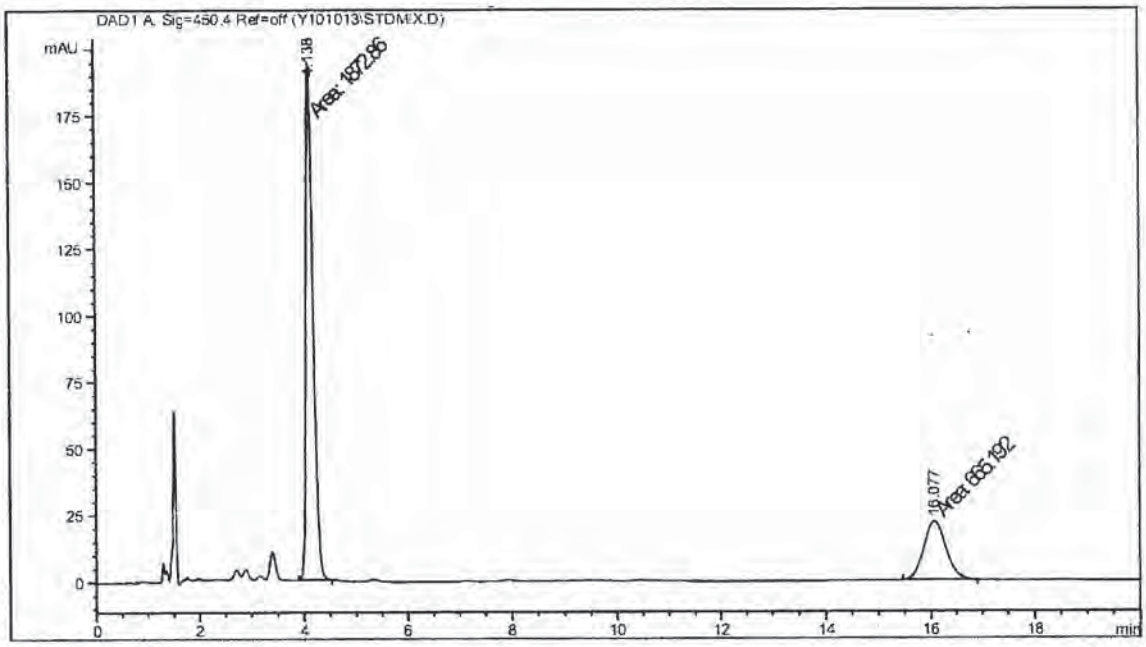
การทดลองการสกัดตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ capsanthin และ beta-carotene ในตัวอย่างเดียวกัน โดยทำการสกัดตามวิธีการวิเคราะห์ capsanthin และทำการสกัดตามวิธีวิเคราะห์ beta-carotene โดยขั้นตอนในการทดลองในจะฉีดสารละลายมาตรฐาน capsanthin และ beta-carotene และสารมาตรฐานผสมระหว่าง capsanthin และ beta-carotene เพื่อระบุค่า retention time ของพีคสารมาตรฐาน (แสดงในภาพ 3.14, 3.15 และ 3.16 ตามลำดับ) โดยจากการวิเคราะห์ พบว่าพีคของ capsanthin ขึ้นที่เวลา 4.16 นาที และ beta-carotene ขึ้นที่เวลา 16.11 นาที และเมื่อดำเนินการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัดสารตัวอย่างด้วยระบบการสกัดสองแบบ (แสดงผลการทดลองดังภาพ 3.17 และ 3.18 สำหรับการสกัดวิธีที่ 1 และ 2 ตามลำดับ) พบว่าการสกัดสารตัวอย่างด้วยวิธีการทั้งสองให้ผลไม่แตกต่างกัน โดยมีลักษณะของพีคที่ปรากฏในสารตัวเหมือนกัน และค่าพื้นที่ใต้กราฟของสารที่สนใจมีค่าใกล้เคียงกัน



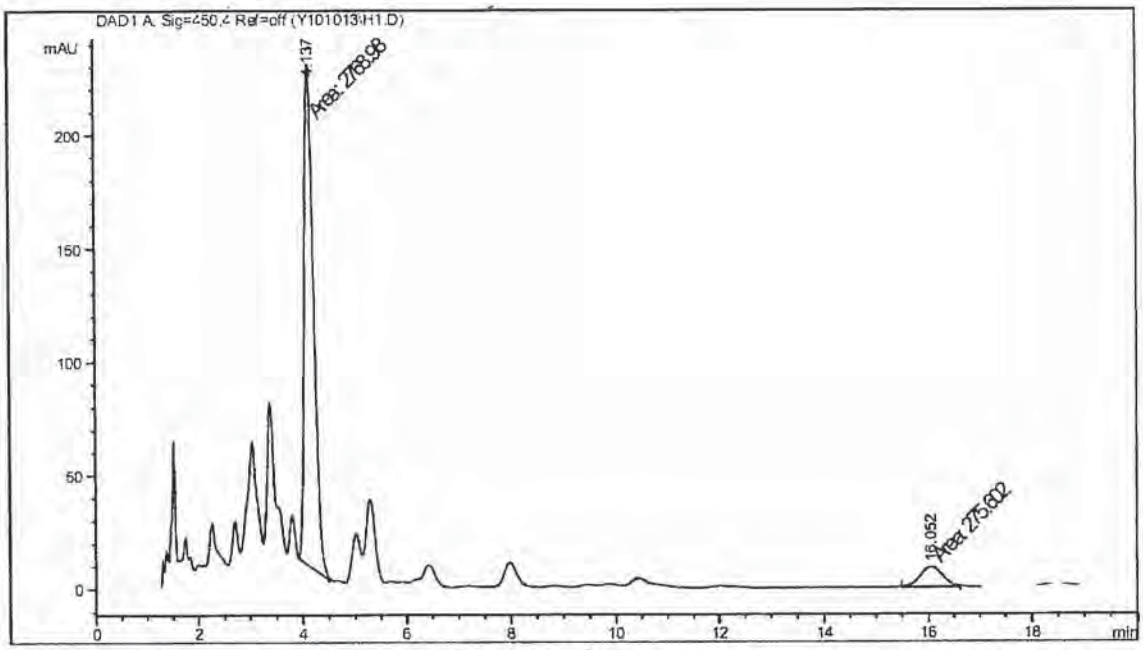
ภาพ 3. 4 โครมาโทแกรมสารมาตรฐาน capsanthin ในระบบ Mobile phase 20% MTBE:MeOH



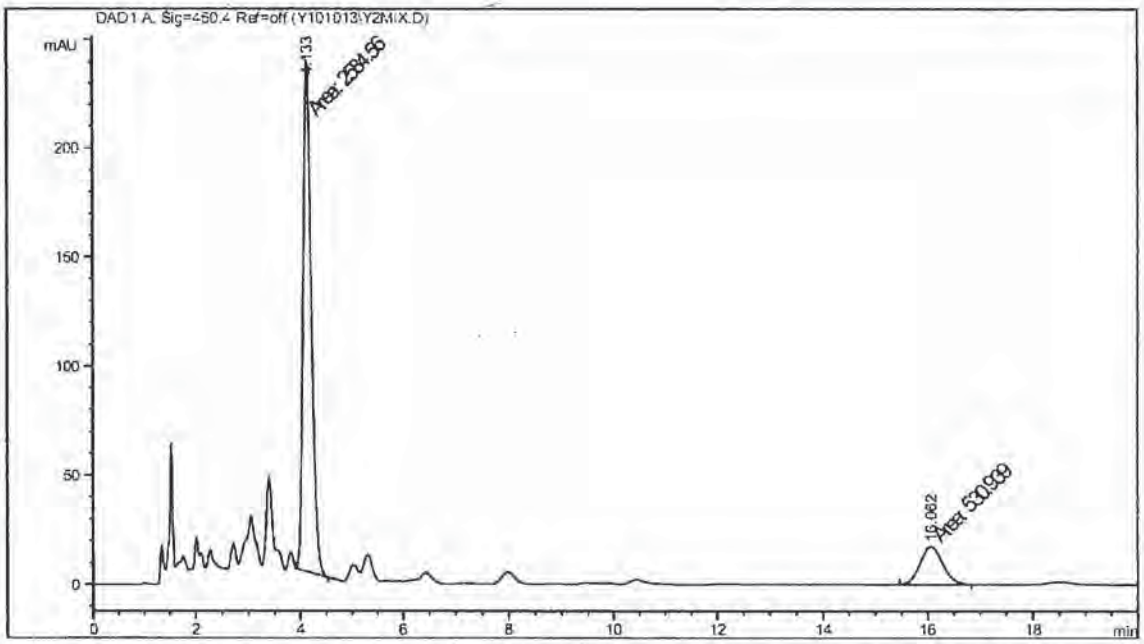
ภาพ 3. 5 โครมาโทแกรมสารมาตรฐาน beta-carotene ในระบบ Mobile phase 20% MTBE:MeOH



ภาพ 3. 6 โครมาโทแกรมสารมาตรฐานผสม capsanthin กับ beta-carotene ในระบบ Mobile phase 20% MTBE:MeOH



ภาพ 3. 7 โครมาโทแกรมสารตัวอย่างที่สกัดด้วยวิธีที่ 1 ในระบบ Mobile phase 20% MTBE:MeOH

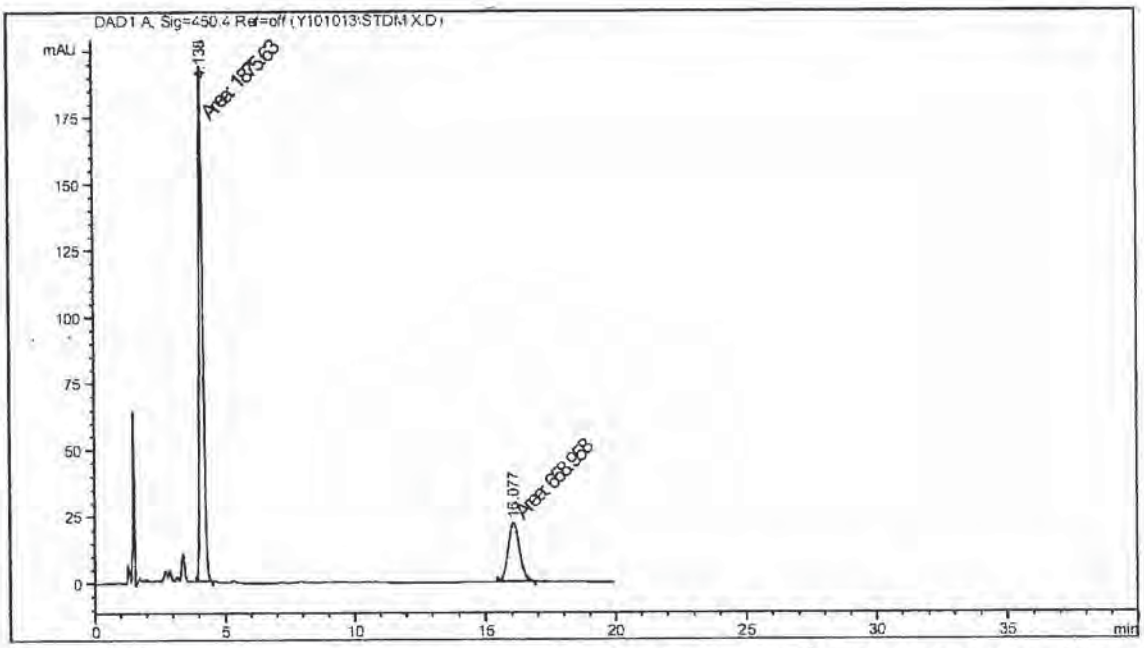


ภาพ 3. 8 โครมาโทแกรมสารตัวอย่างที่สกัดด้วยวิธีที่ 2 ในระบบ Mobile phase 20% MTBE:MeOH

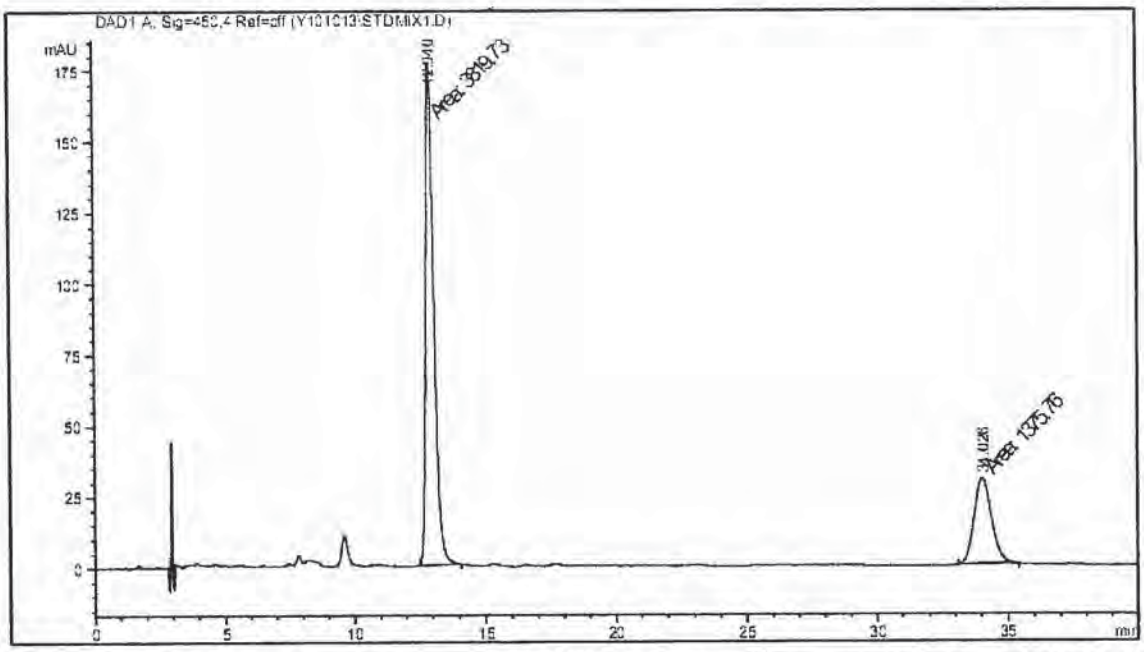
ศึกษาระบบ mobile phase

ในการศึกษาระบบ mobile phase ที่ใช้ในการวิเคราะห์จะทำการศึกษาระบบ 2 ระบบ คือระบบ mobile phase ที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณ capsanthin (ACN:IPA:EtOAc (70:15:15) 0.1% TEA) และระบบที่ใช้วิเคราะห์ beta-carotene (20% MTBE:MeOH) โดยการทดลองจะฉีดสารละลายมาตรฐานผสมของสารทั้งสองโดยใช้ระบบ mobile phase ทั้งสองระบบเปรียบเทียบกัน (แสดงดังภาพ 3.19 และ 3.20) จากการทดลอง พบว่า ระบบที่ใช้ 20% MTBE:MeOH เป็น mobile phase ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 20 นาที โดยพบพีคของสาร capsanthin ที่เวลา 4.14 นาที และพีค beta-carotene ที่เวลา 16.08 นาที ตามลำดับ ส่วนระบบที่ ACN:IPA:EtOAc (70:15:15) 0.1% TEA พบว่าใช้เวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมด 40 นาที โดยพบพีคของ capsanthin ที่เวลา 12.94 นาที และพีค beta-carotene ที่เวลา 34.03 นาที ตามลำดับ

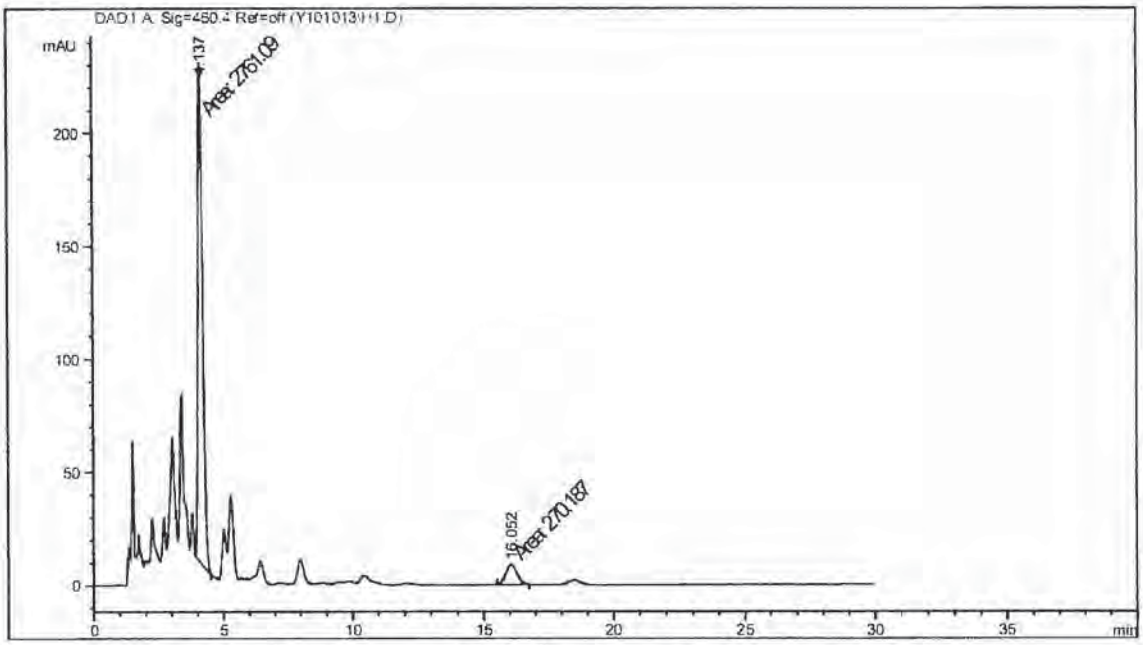
ในการศึกษาระบบ mobile phase กับสารตัวอย่าง (แสดงในภาพ 3.21 และ 3.22) พบว่า ระบบ mobile phase ที่ใช้ 20% MTBE:MeOH เป็น mobile phase ไม่สามารถแยกพีคที่ซ้อนทับอยู่ใต้พีคสาร capsanthin ได้ แต่ในขณะเดียวกันระบบที่ใช้ ACN:IPA:EtOAc (70:15:15) 0.1% TEA เป็น mobile phase สามารถแยกพีคที่ซ้อนออกมาจากพีคสาร capsanthin ได้



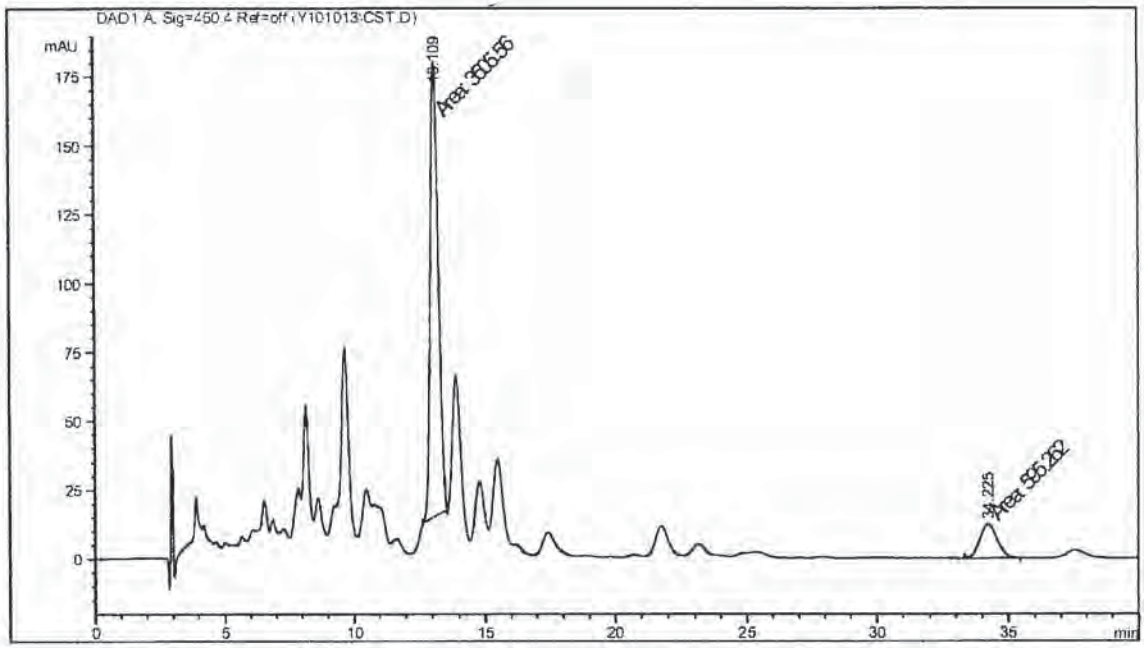
ภาพ 3. 9 โครมาโทแกรมสารมาตรฐานผสม capsanthin กับ beta-carotene ในระบบ Mobile phase 20% MTBE:MeOH



ภาพ 3. 10 โครมาโทแกรมสารมาตรฐานผสม capsanthin กับ beta-carotene ในระบบ Mobile phase ACN:IPA:EtOAc (70:15:15)



ภาพ 3. 11 โครมาโทแกรมสารตัวอย่าง ในระบบ Mobile phase 20% MTBE:MeOH



ภาพ 3. 12 โครมาโทแกรมสารตัวอย่าง ในระบบ Mobile phase ACN:IPA:EtOAc (70:15:15)

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองวิธีการสกัดทั้งสองให้ผลไม่แตกต่างกัน ดังนั้นในการทดลองขั้นตอนต่อไปจึงเลือกวิธีการสกัดแบบวิธีที่ 2 เนื่องจากไม่เกิดไขมันในกระบวนการสกัดสารตัวอย่าง และระบบ mobile phase ที่ใช้เลือกเป็นระบบ ACN:IPA:EtOAc (70:15:15) 0.1% TEA เนื่องจากสามารถแยกสารที่ซ้อนทับกันออกได้ แต่ใช้เวลาในการวิเคราะห์มากกว่า อาจจะต้องพัฒนาวิธีวิเคราะห์เพื่อให้ใช้เวลาในการวิเคราะห์ลดลงได้